Aus dem Robert-Koch-Institut, Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

TIEREXPERIMENTE ZU EINER KOMBINIERT SPEZIFISCHEN UND UNSPEZIFISCHEN IMMUNISIERUNG DER OBEREN LUFTWEGE GEGEN EINE INTRANASALE INFEKTION MIT DEM A/PR8/INFLUENZAVIRUS

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Brigitte Schimmrich
aus Chemnitz

1977

Aus dem Robert-Koch-Institut, Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

TIEREXPERIMENTE ZU EINER KOMBINIERT SPEZIFISCHEN UND UNSPEZIFISCHEN IMMUNISIERUNG DER OBEREN LUFTWEGE GEGEN EINE INTRANASALE INFEKTION MIT DEM A/PR8/INFLUENZAVIRUS

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Brigitte Schimmrich
aus Chemnitz

Referent: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig

Korreferent: Professor Dr. med. Werner Schwab

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promoviert am: 13.10.1977

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung..... 1

B. Material und Methoden..... 19

1) Versuchstiere..... 19
2) Impfstoffe..... 19
3) Immunisierung..... 20
4) Impfstoffdosis..... 21
5) Virus..... 22
6) Infektion..... 22

C. Ergebnisse, Tabellen, graphische Darstellungen, statistische Sicherung..... 23

D. Diskussion..... 48

E. Zusammenfassung..... 51

F. Literaturverzeichnis..... 52

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549607_0081

A. Einleitung

Daß ein Mensch, der bestimmte Infektionskrankheiten durchgemacht hat, selten ein zweites Mal an diesen erkrankt, ist eine sehr alte Erfahrung. Aus dieser Erfahrung heraus hat sich im Verlauf vieler Jahrhunderte der Gedanke und die praktische Anwendung der aktiven Schutzimpfung entwickelt.

In Briefen aus dem Jahre 1733 berichtet VOLTAIRE, daß die Chinesen schon seit dem 15. Jahrhundert getrockneten, pulverisierten Schorf von Pockenpusteln prophylaktisch durch die Nase schnupften und daß die Tscherkessen auf ihre Töchter in der Kindheit die Pocken durch kleine Hautschnitte, in die etwas Pockenlymphe eingebracht wurde, künstlich übertrugen, damit die Schönheit der Mädchen erhalten blieb, denn sie wurden in persische und türkische Harems verkauft. Die ersten planmäßigen Experimente mit Kuhpocken wurden dann am Ende des 18. Jahrhunderts von dem englischen Arzt JENNER durchgeführt. LOUIS PASTEUR, der zusammen mit ROBERT KOCH Ende des 19. Jahrhunderts die Bakteriologie zu einer experimentellen Wissenschaft gestaltete, interessierte sich besonders für immunologische Erkenntnisse und deren praktische Anwendung. Zu Ehren von JENNER nannte PASTEUR seine Immunisierungsversuche mit abgeschwächten Erregern Vakzination; ein Begriff, der seither für jede parenterale oder lokale Gabe von virulenten oder avirulenten Mikroorganismen oder deren Ausscheidungsprodukten steht, wenn damit eine Immunität gegen Infektionskrankheiten erzeugt werden soll (30).

Die Abwehrmethoden des Körpers gegen krankheitserregende Keime und deren Toxine wurden seit Ende des vorigen Jahrhunderts von vielen Forschern untersucht. Fast gleichzeitig wurden zwei verschiedene Abwehrsysteme - das humorale und das zelluläre - entdeckt. Mit der Erforschung der humoralen Immunität sind die Namen ROUX und YERSIN, KITASATO und VON BEHRING (1) verbunden, besonders aber wurde sie durch die Seitenkettentheorie von PAUL EHRLICH (14) beeinflußt.

Im Gegensatz zur Theorie des humoralen oder antikörperbildenden Abwehrsystems stand die Auffassung METSCHNIKOFFs (45), daß

die Zellen, d.h. die Phagozytose der Leukozyten für die Immunität eine größere Bedeutung als die humoralen Faktoren hätten. 1959 hat HIRSCH (27) diese Lehre wieder aufgegriffen und ihre Bedeutung für die moderne Immunitätslehre herausgestellt. BESREDKA (3), ein Schüler METSCHNIKOFFs, erweiterte die Auffassung über die zelluläre Immunität. Er ging davon aus, daß jedes Organ spezialisierte Zellen, sog. fixierte Phagozyten, besitzt, die mit einem bestimmten Erreger reagieren können, wodurch es zur Erkrankung des Organs kommt. Durch eine lokale (kutane oder orale) Verabreichung von Vakzinen "gewöhnen" sich diese Zellen an den Erreger und reagieren - auch bei nachfolgender Belastung mit dem virulenten Keim - nicht mehr mit diesem. Die "mobilen Phagozyten", also die Leukozyten, können den Erreger nun mühelos phygozytieren.

Die deutsche Schule, die die Lehre von der humoralen Immunität vertrat, stand der französischen Schule gegenüber, die der Lehre von der lokalen, zellgebundenen Immunität den Vorzug gab. Während BESREDKA seine Theorie der lokalen Immunität nicht ausreichend experimentell zu untermauern vermochte, konnte die deutsche Schule, die bevorzugt parenterale Methoden anwendete, den Erfolg am Anstieg der spezifischen Antikörper direkt nachweisen. Doch wurden auch immer wieder Versuche unternommen, um zu beweisen, daß es neben der humoralen auch eine organgebundene Immunität gibt. Diese entsteht, wenn durch lokale Immunisierung die Eintrittspforte für den Erreger, beispielsweise die Darmschleimhaut für Salmonellen durch Antigenkontakt für virulente Keime unempfänglich wird (51, 114).

Der Erfolg im Nachweis einer lokalen Immunität einerseits und die oft sehr unangenehmen Nebenwirkungen einer parenteralen Impfung andererseits führten zur Erprobung von lokalen Impfmethoden. LOEFFLER (41) wies 1906 im Tierversuch nach, daß Mäuse nach oraler Gabe von abgetötetem S. typhi murium gegen eine Infektion mit dem virulenten Keim geschützt waren. YOSHIDA (118) konnte 1909 dieses Ergebnis bestätigen und darüber hinaus nachweisen, daß durch die orale Immunisierung sich auch eine Schutzwirkung gegen einen heterologen Keim einstellt, die bei der parenteralen Impfung ausbleibt.

Seither wurden zahlreiche Versuche über orale Immunisierung durchgeführt und verschiedene attenuierte und inaktivierte Impfstoffe auf ihre Wirksamkeit geprüft, sowohl in Tierexperimenten als auch in Feldversuchen, hier vor allem mit Ruhr-, Cholera- und Typhusimpfstoffen (58). Fast alle Autoren konnten in den Feldversuchen eine Morbiditäts- und oft auch eine Letalitätssenkung nachweisen. Eine umfangreiche Zusammenstellung von Veröffentlichungen über lokale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen für die Jahre 1891 bis 1968 gibt BREUEL (6).

RAETTIG, der nach dem II. Weltkrieg die orale Typhusschutzimpfung erneut anwendete und ihre Weiterentwicklung empfahl (55, 56), bestätigte den oben genannten Versuch von LOEFFLER und erforschte seit 1961 in umfangreichen Tierexperimenten die lokale Abwehr des Darmes (57, 62). Dabei zeigte sich, daß es nach oraler Immunisierung mit hitzeinaktivierten Keimen nicht nur zu einem spezifischen Schutz gegenüber einer oralen oder parenteralen homologen Infektion kommt, sondern auch zu einem Schutz gegen heterologe Keime (63). Die Ergebnisse konnten immer wieder bestätigt werden, sowohl bei vorhandener als auch bei nicht vorhandener Antigengemeinschaft der Keime; so 1965 von JANDL (31), 1967 von RANKIN et al. (75), 1968 von KINNE-SAFFRAN et al. (33), 1970 von RAETTIG und MARQUARDSEN (74), 1971 von STREY et al. (92). Gleiche Ergebnisse zeigten sich auch gegenüber enterotroper Virusinfektionen. So waren oral mit hitzeinaktiviertem S. typhi murium immunisierte Mäuse signifikant gegen eine mäusepathogene Columbia-SK-Virus-Infektion geschützt, obwohl zwischen beiden Keimen keine Antigengemeinschaft besteht (64); ebenso verlieh der SALK-Impfstoff aus inaktivierten Poliomyelitisviren oral angewendet den Mäusen einen unspezifischen Schutz gegen eine Columbia-SK-Virus-Infektion (48).

Die lokale Vakzination erfolgt entweder kutan oder enteral. Bei jeder enteralen Immunisierung wird das Antigen auf eine Schleimhaut gebracht. Um die Vorgänge bei der Entwicklung einer Immunität der Schleimhaut und darüber hinaus des gesamten Organismus aufklären zu können, mußte zuerst einmal der Weg des Antigens nach seinem Kontakt mit der Schleimhaut verfolgt werden.

Bis vor wenigen Jahren wurde angezweifelt, daß großkorpuskuläre Partikel ohne Veränderung ihrer Struktur die Darmschleimhaut durchdringen können, obwohl bereits 1843 HERBST nach Verfütterung von Stärkemehl im Tierversuch unveränderte Stärkekörner im strömenden Blut und im Ductus thoracicus nachwies (25) und 1905 diese Befunde von RAHEL HIRSCH bestätigt wurden (28). Erst durch die umfangreichen Arbeiten VOLKHEIMERs und seiner Mitarbeiter seit 1959 wurde die Tatsache der Aufnahme großkorpuskulärer Partikel über die Darmschleimhaut bis zu einer Größe von 150 µm anerkannt (99). VOLKHEIMER nannte diesen Vorgang Persorption, da die Aufnahme parazellulär erfolgt (98). Die Partikel gelangen dann über die Lymphgefäße und Mesenterialvenen in den Blutkreislauf. Die Persorptionskurve zeigt zwei bis drei Maxima der Partikel im Blut, und zwar 10 - 12, 90 - 120 und oft noch einmal 210 - 240 Minuten nach oraler Aufnahme (99).

Von diesen Ergebnissen ausgehend, untersuchte RAETTIG die Durchlässigkeit der Darmwand für Viren. Es wurden zunächst Coli-B-Phagen T_3 verwendet, weil sie sich nicht im Darmepithel vermehren können und somit pathogenetische Vorgänge in der Darmwand ausgeschaltet sind. Schon wenige Minuten nach Sondenfütterung erscheinen die Phagen im Blut, so daß ein parazellulärer Durchgang angenommen werden kann (60). Aber auch bei Versuchen mit dem für Mäuse enteropathogenen Parapoliomyelitisvirus Columbia SK kommt es schon wenige Minuten nach oraler Gabe zu einer Virämie, die 4 bis 6 Stunden anhält und von RAETTIG als Resorptionsvirämie bezeichnet wird. Sie ist im Gegensatz zur Infektionsvirämie, die wesentlich später auftritt, nicht von der Pathogenität und der Menge des Erregers abhängig (61). HOFFMANN (29) verabreichte Mäusen Coli-B-Phagen T_3 rektal, intratracheal und oral. Die Resorptionsvirämie war um so geringer, je tiefer er bei der oralen Gabe die Phagen mit der Schlundsonde einbrachte, am geringsten bei direkter Gabe in den Magen. Sie war am höchsten, wenn die Tiere auf einen phagengetränkten Tupfer bissen. HOFFMANN nahm an, daß in der Mundhöhle und im Oesophagus keine nennenswerte Resorption stattfindet, daß aber ein großer Teil der Phagen bei dieser Anwendungsart infolge Aspiration über den Respirationstrakt aufgenommen

wird. Diese Annahme konnte durch eine 100 %ige Virämiequote nach intratrachealer Gabe gestützt werden. Auch nach rektaler Gabe ist die Resorptionsvirämie hoch. Auffallend ist, daß sowohl nach intratrachealer als auch nach rektaler Gabe sich die Phagen schon nach 2 - 3 Minuten in der Speicheldrüse intensiv ansammeln und daß in den darauffolgenden 2 Minuten diese Konzentration rapid wieder abfällt. Diese Erscheinung fehlt bei parenteraler Phagengabe. Nach intratrachealer Gabe erfolgt die schnelle Phagenkonzentration nicht nur in der Speicheldrüse, sondern auch in anderen Organen, wo die Phagen innerhalb weniger Minuten inaktiviert werden, wodurch die Virämie niedrig gehalten und die unspezifische humorale Abwehr geschont wird. HOFFMANN nimmt an, daß die Schleimhäute, möglicherweise aufgrund ihrer von VOSS (100) näher beschriebenen Polyelektrolyte, eine unspezifische Abwehr gegen Viren darstellen und daß sie bei massivem Virenangriff dies in einer Weise verändern, die den Organismus zu anderen Abwehrmaßnahmen befähigen. MEVES (46) injizierte Mäusen subkutan hitzeinaktiviertes, radiomarkiertes S. typhi murium-Antigen und fand kurze Zeit danach größere Mengen des Antigens im Mageninhalt, woraus er auf eine Sekretion schließt. SAHM (79) verabreichte daraufhin Mäusen Coli-Phagen T_3 intravenös und konnte schon 2 Minuten nach der Injektion die ersten Phagen im Mageninhalt nachweisen, in einer Zeit, die gegen eine aktive zelluläre Sekretion und für einen parazellulären Vorgang spricht. Da nach Oesophagusligatur der Phagentiter im Magen gering ist, schließt SAHM daraus, daß ein großer Teil der Phagen über Speicheldrüsen, lymphatischen Rachenring, Rachenschleimhaut und Respirationstrakt ausgeschieden wird. UECKER et al. (96) verabreichten Mäusen oral, rektal und subkutan hitzeinaktivierte, mit P 32 markierte S. typhi murium-Bakterien. Nach 10 Minuten konnte Radioaktivität im strömenden Blut nachgewiesen werden, und eine überdurchschnittliche Aktivität konnte in Leber, Milz, Lunge und Speicheldrüsen, also Organen mit hohem RES-Anteil, gemessen werden. Alle diese Versuche machen es wahrscheinlich, daß, unabhängig vom Aufnahmeort, ein Kreislauf der Antigene über den parazellulären Mechanismus der Persorption und Sekretion stattfindet, wie ihn RAETTIG schon 1965 postuliert hat (66). Danach soll

ein Teil des aufgenommenen Antigens ausgeschieden werden und damit, ohne immunologisch wirksam zu werden, verlorengehen. Ein zweiter Teil soll zu den immunologisch aktiven Zellen gelangen und zur spezifischen Immunantwort führen. Ein dritter Teil soll nach Persorption über den Blutweg zur Schleimhaut des Respirationstraktes und der Speicheldrüsen gelangen und dort parazellulär sezerniert, dann verschluckt und auf enteralem Wege wieder aufgenommen werden.

Auch für lebende bakterielle Keime und für vermehrungsfähige und inaktivierte C. albicans konnte eine Persorptionsvirämie, unabhängig von der Menge, der Größe und der Form der Keime, nachgewiesen werden, die in ihrer Zeitkinetik mit der Zeitkinetik übereinstimmt, die in den vorgenannten Persorptionsversuchen mit Phagen und inaktivierten Bakterien gefunden wurde (19). Somit konnte eine allgemeingültige Normkurve der Persorptionskinetik aufgestellt werden (83). Weiterhin konnten SCHLEWINSKI et al. in diesem Versuch auch zeigen, daß die Kurve der Sekretion der der Persorption sehr ähnlich ist.

Wenn nun, bedingt durch den Kreislauf der Antigene, diese auch nach lokaler Gabe mit den für die Bildung humoraler Antikörper verantwortlichen Zellen in Kontakt kommen, müßten ebenso wie nach parenteraler auch nach lokaler Immunisierung humorale Antikörper auftreten. Die Angaben aus früheren Ergebnissen sind widersprüchlich (58), doch stimmen die meisten Autoren darin überein, daß es nach lokaler Immunisierung auch zu einer humoralen Immunantwort kommt, daß aber die belastbare Immunität unabhängig von der Höhe und dem zeitlichen Erscheinen der Serumantikörper ist.

RAETTIG und BUSE (72) immunisierten Mäuse entweder oral oder subkutan mit inaktivierten S. typhi murium-Bakterien und benutzten zum Antikörpernachweis die Haemagglutinationsmethode. Dabei zeigte sich, daß die Höhe des Antikörpertiters nach oraler Impfung von der Antigendosis abhängig ist, daß die Antikörperkurven für orale und subkutane Impfung gleichsinnig verlaufen und daß, wenn oral immunisierte Mäuse zu einem Zeitpunkt, an dem bei ihnen kaum noch Serumantikörper nachweisbar sind, oral mit virulenten S. typhi murium-Bakterien infiziert werden, es zu einem schnellen, hohen und langanhaltenden Antikörper-

anstieg im Serum kommt. Auch in Versuchen, die von LIETZ (39) und von LIETZ und RAETTIG (40) mit Dyspepsie-Colibakterien durchgefhrt wurden, konnte gezeigt werden, daß nach oraler Immunisierung nicht die Höhe des Serumantikörpertiters zum Zeitpunkt der Infektion entscheidend ist, sondern die Bereitschaft der immunkompetenten Zellen, im Bedarfsfall schnell Antikörper zu bilden. RAETTIG und BUSE (73) konnten diese immunologische Sekundärantwort auch bei anderen Versuchstieren nachweisen und zeigen, daß sie bei der Maus noch 257 Tage nach lokaler Immunisierung auszulösen ist, was in diesem Fall der Hälfte des Lebens entspricht. Die Sekundärantwort tritt nicht nur bei Infektion nach vorangegangener Grundimmunisierung ein, sondern auch dann, wenn sich einige Zeit nach der Primärimmunisierung eine ein- oder mehrmalige erneute Gabe von inaktiviertem Antigen anschließt, wie MOCHMANN et al. zeigen konnten (47). Die Sekundärantwort nach lokaler unterscheidet sich nicht von der nach parenteraler Immunisierung (37).

Nachdem BESREDKA postuliert hatte, daß nach enteraler oder kutaner Infektion eine lokale Immunität, unabhängig von zirkulierenden Antikörpern, entstehen kann (3), wurde nachfolgend in zahlreichen Experimenten das Wesen der lokalen Immunität erforscht.

Bei der Suche nach diagnostischen Möglichkeiten der Dysenterie fand DAVIES 1922 Antikörper im Stuhl (11). 1947 konnten BURROWS et al. am Meerschweinchen-Modell nachweisen, daß die Immunität gegen Cholera-Vibrionen von Antikörpern vermittelt wird, die sich in den Sekreten des Gastrointestinaltraktes befinden und die von BURROWS Koproantikörper genannt wurden (8). Etwa zu gleicher Zeit konnte FAZEKAS de St. GROTH an der Maus zeigen, daß die Immunität gegen experimentelle Influenza abhängig ist von der Anwesenheit eines ausreichenden Antikörpertiters in den Bronchialsekreten (15). In einer Zusammenfassung berichtet PIERCE (52) über ältere Versuche in der Veterinärmedizin über spezifische Antikörper auf Schleimhäuten im Urogenitaltrakt. 1963 untersuchten FRETER und GANGAROSA (18) an Versuchspersonen, die oral mit hitzeinaktivierten V. cholerae immunisiert wurden, Serum- und Koproantikörper, und sie kamen dabei zu der

Überzeugung, daß die Koproantikörper lokal im Darm gebildet werden. RAUSS und KETYI konnten zeigen, daß Koproantikörper sowohl nach oraler als auch nach subkutaner Immunisierung auftreten und daß sie sich in ihrer Zeitkinetik von der der Serumantikörper unterscheiden (76).

Nachdem die Aufklärung der chemischen Struktur und der biologischen Eigenschaften der verschiedenen Serumantikörperklassen gelungen war und HEREMANS et al. 1959 das Serum-IgA beschrieben hatten (26), konnten TOMASI und ZIGELBAUM zeigen, daß die meisten Sekretionen bei Mensch und Tier im Gegensatz zum Serum vorwiegend das Immunglobulin A enthalten und daß sich dieses sekretorische IgA vom Serum-IgA chemisch und biologisch unterscheidet (95, 93). Seither wurde das sekretorische IgA von vielen Arbeitsgruppen untersucht; eine zusammenfassende Übersicht davon gaben 1974 WALDMAN und GANGULY (103). Das sekretorische IgA ist identisch mit den vorgenannten Koproantikörpern, soweit es den Darm betrifft. Es wurde im Respirations-, im Gastrointestinal-, im Urogenitaltrakt, im Speichel, in der Tränenflüssigkeit, im Colostrum nachgewiesen. Es wird in den Plasmazellen der Lamina propria gebildet und in den Epithelzellen mit Hilfe des Transportstücks oder "secretory piece" (auch sekretorische Komponente genannt) zum 11 S Dimer gekoppelt und aktiv sezerniert. Es ist der Hauptträger des lokalen Immunsystems, das sich vom systemischen Immunsystem unterscheidet und von diesem weitgehend unabhängig ist. Die Produktion von sekretorischem IgA wird vorwiegend durch lokale Verabreichung des Antigens induziert, entsteht aber auch in geringer Menge nach parenteraler Immunisierung. Sekretorisches IgA ist weniger empfindlich gegenüber proteolytischen Fermenten, die in den Sekreten reichlich vorhanden sind bzw. von eingedrungenen Mikroorganismen gebildet werden, und es ist in seiner Bindung zum Antigen weniger spezifisch als die anderen Immunglobuline. Der Kreislauf der Antigene versetzt den Organismus in die Lage, alle seine Möglichkeiten der Immunabwehr zu aktivieren; eine wiederholte Gabe des Antigens unterstützt diesen Vorgang (70). MARWIK (44) konnte zeigen, daß eine Inhalationsimmunisierung mit hitzeinaktivierten S. typhi murium-Bakterien Mäuse gegen eine orale experimentelle Infektion schützt. Die-

ser Schutz kann auf einer spezifischen systemischen Immunabwehr beruhen und/oder auf einer lokalen spezifischen Immunantwort der Darmschleimhaut. Die Arbeitsgruppe um HEREMANS konnte zeigen, daß die Lamina propria der inneren Hohlorgane ein selbständiges immunkompetentes Organ darstellt, das vorwiegend durch lokale Immunisierung aktiviert wird (10). WERNER et al. fanden nach oraler Immunisierung der Maus im Darm mit Hilfe einer modifizierten Technik nach JERNE neben IgA- auch IgM- und IgG-produzierende Zellen und einen biphasischen Anstieg der IgM-produzierenden Zellen, der sich nach parenteraler Immunisierung nicht findet (116). FERNALD et al. vertreten die Ansicht, daß das lokal gebildete IgM seiner Größe wegen nicht sezerniert werden kann, das es am Bildungsort verbleibt und so eine immunologische Gewebsschranke bildet (17). Eine Darstellung des derzeitigen Wissensstandes über das lokale Immunsystem und das sekretorische Immunglobulin gibt TOMASI (94).

Ebenso wie die Darmschleimhaut ist auch die Schleimhaut der Luftwege ein für viele Krankheitserreger empfängliches Organ. So wurden schon frühzeitig Schutzimpfungen über den Respirationstrakt durchgeführt. 1910 immunisierte DSERZGOWSKY (12) Pferde und Menschen aktiv mit Diphtherietoxin durch Inhalation der zerstäubten Toxinlösung oder durch Einführung toxingetränkter Wattetampons in die Nase mit gutem Erfolg. DSERZGOWSKY hob für diese lokale Anwendung auch das Fehlen von Nebenreaktionen und die leichte Handhabung bei Massenimpfungen hervor. 1911 impfte BLUMENAU (4) Kinder durch Einführung diphtherietoxingetränkter Tampons in die Nase und konnte die Ergebnisse von DSERZGOWSKY bestätigen. Er wies Antitoxinanstiege im Serum der Impflinge bis zum Tausendfachen nach und empfahl, diese Impfmethode in breitem Maße anzuwenden. Auch SCHEWELEFF (81) konnte zur gleichen Zeit durch Inhalation und durch intratracheale und intralaryngeale Einführung von Diphtherietoxin bei Versuchstieren gute Ergebnisse erreichen. In den zwanziger Jahren immunisierte SANARELLI Kaninchen und Menschen mit inaktivierten Typhus-, Cholera-, Dysenterie- und Meningokokken-Impfstoffen und erzielte hohe Agglutinintiter und einen guten Infektionsschutz (80). EGUCHI immunisierte Mäuse mit inakti-

vierten Pneumokokken entweder durch mehrfache orale Gabe oder durch mehrfache Inhalation und erreichte den besseren Impfschutz durch die Inhalation. Selbst gegen eine Infektion mit 100fach tödlicher Dosis trat dieser Impfschutz ziemlich regelmäßig ein (13).

Versuche vieler anderer Arbeitsgruppen bestätigten immer wieder die Wirksamkeit der Inhalationsimpfung und ließen Fragen nach der Art der entstehenden Immunität und nach dem Weg des inhalierten Antigens aufkommen. In den dreißiger Jahren immunisierten WALSH et al. Kaninchen intranasal mit inaktivierter Paratyphus B-Vakzine und wiesen spezifische Agglutine in Nasenschleimhaut, Lunge und Serum nach. Die Arbeitsgruppe nahm an, daß die Agglutinine lokal gebildet werden und durch Diffusion in die Blutbahn gelangen (112). Weiterhin immunisierten WALSH und CANNON Kaninchen intranasal mit inaktivierten Pneumokokken und fanden eine gut belastbare Immunität. Da der Impfschutz nach intranasaler Immunisierung besser ausfiel als nach oraler, gingen die Autoren davon aus, daß der Impfstoff bei intranasaler Gabe nicht über den Verdauungstrakt, sondern über den Respirationstrakt wirkt (110). In einem weiteren Versuch konnten WALSH und CANNON zeigen, daß bei parenteraler Immunisierung wenig lokale Antikörper im Respirationstrakt gebildet werden, bei nasaler Immunisierung aber wesentlich mehr (111). VAN DE LOO immunisierte in den fünfziger Jahren Kaninchen durch Inhalation mit inaktivierten S. paratyphus-B-Bakterien. Er konnte sowohl einen deutlichen Anstieg spezifischer Agglutinine im Serum zwischen 3. und 16. Tag nach letzter Immunisierung nachweisen als auch eine Zunahme von Plasmazellen zwischen 6. und 12. nach letzter Immunisierung in der Lamina propria des Bronchialbaumes. Demgegenüber fanden sich im respiratorischen Parenchym keine Plasmazellen, sondern vermehrt abgelöste Alveolarepithelien, besonders zwischen dem 9. und 12. Tag nach der letzten Immunisierung (42). 1960 konnten SMITH et al. am Menschen nachweisen, daß ein Schutz gegen eine Infektion mit Parainfluenza Typ 1 mit dem Titer der lokalen Immunglobuline in der Schleimhaut des Respirationstraktes weit mehr korreliert als mit dem Serumantikörpertiter (88). CHANNOCK et al. immunisierten Menschen mit inaktiviertem Rhinovirus

Typ 13 parenteral und nasal. Beide Gruppen bildeten Serumantikörper, aber nur die nasal immunisierte Gruppe zeigte einen hohen Titer in den nasopharyngealen Sekretionen, u.z. vom IgA-Typ (9).

Aus diesen Versuchen, die von anderen Arbeitsgruppen immer wieder bestätigt wurden, geht hervor, daß auch in der Mukosa des Respirationstraktes eine Antikörpersynthese vorwiegend vom sekretorischen IgA-Typ stattfindet, die besonders durch lokale Immunisierung bzw. durch Infektionen der oberen Luftwege stimuliert wird.

SCHIESSLE hat Versuchstieren verschieden gelöste Substanzen inhalieren lassen und deren weiteren Weg im Tracheobronchialbaum und im Alveolarraum beobachtet (82). Demnach erfolgt die Resorption von echten und kolloidalen Lösungen im Tracheobronchialbaum intrazellulär, die Resorption von Partikeln aber interzellulär; in den Alveolen überwiegt die intrazelluläre, durch Phagozytose bewirkte Aufnahme. Der Abtransport erfolgt sowohl hämatogen als auch lymphogen, wobei der zweifachen Lungenpassage der lymphogen über den Ductus thoracicus abtransportierten Teilchen besondere Bedeutung zukommen müsse. Für den hämatogenen Abtransport bestehen beste Bedingungen, und was beispielsweise bei inhalierten Medikamenten die Schnelligkeit des Wirkungseintrittes anbelange, sei die Inhalation einer intravenösen Injektion vergleichbar. Untersuchungen hatten ergeben, daß um so mehr Teilchen bis zu den Lungenalveolen vordringen, je kleiner sie sind (7). Aerosole von einer durchschnittlichen Teilchengröße von 2 µm gelangen sowohl beim Versuchstier als auch beim Menschen bis zu den Alveolen (42).

Die gute und schnelle Persorptionsfähigkeit des Respirationstraktes wird auch durch die bereits erwähnten Versuche von HOFFMANN (29) eindrucksvoll bestätigt, da dort die Persorptionsvirämiequote nach trachealer Gabe von T_3-Phagen nach wenigen Minuten 100 % beträgt im Gegensatz zu 60 % bei oraler Gabe.

Nach all den veröffentlichten Ergebnissen kann wohl als bewiesen angesehen werden, daß es neben der spezifischen humoralen auch eine spezifische lokale Immunabwehr gibt, daß das lokale Immunsystem in der Lamina propria der Schleimhaut lokalisiert

ist, daß die dort produzierten Antikörper vorwiegend dem 11 S IgA Typ angehören und daß die lokale Immunität besonders durch die lokale Antigenzufuhr, die den natürlichen Infektionsweg nachahmt, aktiviert wird. Nur daß jede einem Organ zugehörige Schleimhaut ihre eigene Immunität entwickelt, wie es BESREDKA (3) annahm, konnte durch spätere Versuche widerlegt werden. So impfte SANARELLI erfolgreich Kaninchen intranasal gegen Typhus, Cholera und Dysenterie (80). SCHMUDDE immunisierte Mäuse vergleichend oral, rektal und nasal mit inaktivierten S. typhi murium-Bakterien und konnte im Infektionsbelastungsversuch zeigen, daß die nasale Immunisierung bei oraler Infektion der oralen Impfung ebenbürtig ist (84); gleiche Ergebnisse bei Mäusen erzielte NEUMANN-SCHÖNWETTER bei der vergleichenden Impfung mit inaktiviertem Poliomyelitisvirus (48). Durch Inhalation von inaktiviertem S. typhi murium bei der Maus erzielte MARWIK einen statistisch signifikanten Schutz gegen die Infektionsbelastung und ermittelte ein Optimum dieses Impfschutzes zwischen dem 5. und 20. Tag (44). Diese Beispiele mögen genügen, um zu zeigen, daß die Entwicklung einer lokalen Immunität sich nicht allein auf den Ort der primären Antigenzufuhr beschränkt.

Ausgehend von den guten Erfolgen bei intranasaler Gabe bzw. bei Inhalation des Impfstoffes, wurden in letzter Zeit Versuche unternommen, auch gegen die Influenzavirusinfektion lokal zu immunisieren. Influenzaviren werden durch Tröpfcheninfektion übertragen. Sie vermehren sich im Flimmerepithel des Respirationstraktes und sind für dieses zytotoxisch. Influenzavirusinfektionen kommen endemisch, epidemisch und pandemisch vor. Die hohe Letalität, besonders bei Kleinstkindern und älteren und abwehrgeschwächten Menschen,wird vorwiegend durch bakterielle Superinfektionen verursacht, deren Zustandekommen durch die Schädigung des Flimmerepithels begünstigt wird. Da bei der Influenzavirusinfektion eine Virämie fast immer ausbleibt, ist die postinfektiöse systemische Immunität nicht so fundiert wie bei virämischen Krankheiten. Auch können sich humorale Antikörper bei Reinfektionen nicht voll auswirken, weil sich das Virus schon an der Eintrittsstelle des Körpers vermehrt, daher ist für die Wirksamkeit einer Impfung eine hohe

lokale Antikörperkonzentration von ausschlaggebender Bedeutung. Dies kann erreicht werden durch sehr hohe Antikörpertiter im Blut oder durch lokale Bildung von Antikörpern in der respiratorischen Schleimhaut (32). WALDMAN et al. beobachteten, daß der Serumantikörperanstieg und der Anstieg lokaler Antikörper nach Immunisierung nicht übereinstimmt, und sie schließen daraus, daß sowohl die IgA- als auch die IgG-Antikörper im Respirationstrakt vorwiegend lokal gebildet werden. An freiwilligen Versuchspersonen konnte gezeigt werden, daß nach parenteraler Impfung gegen Influenzavirus das IgG : IgA Verhältnis in der Bronchoalveolarflüssigkeit 2,5 : 1 beträgt, dagegen im Nasensekret 1 : 3. Die Autoren erklären diesen Unterschied mit der höheren Proteasenaktivität im oberen Respirationstrakt, welche dort das IgG weitgehend zerstört (104).

Zur Vermeidung einer Influenzaviruserkrankung wird heute meist die parenterale Grippeschutzimpfung durchgeführt; sie ist aus mehreren Gründen umstritten: die Dauer des Impfschutzes ist zu kurz. Es liegen bisher nur wenig exakt nachprüfbare Beweise für die Wirksamkeit der Impfung vor; einer der Parameter für die Wirksamkeitsprüfung eines Impfstoffes ist der Anstieg des Serumantikörperspiegels, der aber nicht in jedem Falle, wie an anderer Stelle ausführlich dargelegt wurde, mit einer Schutzwirkung gleichzusetzen ist. Weiterhin besteht die Möglichkeit der Sensibilisierung oder sogar schwerer allergischer Reaktionen bei Menschen mit einer Eiweißüberempfindlichkeit (die zur Herstellung verwendeten Viren werden in embryonierten Hühnereiern vermehrt).

Das besondere Problem aber ist, daß das zu den Myxoviren gehörende, etwa 100 nm große Influenzavirus, besonders das bei Menschen zumeist vorkommende vom Typ A, fortwährende Änderungen seiner Antigenität aufweist. Da es zwei Oberflächenantigene trägt, die unabhängig voneinander in ihrer Antigenität variieren, ist die mögliche Zahl der verschiedenen Subtypen sehr groß. Diese Subtypen entstehen fast regelmäßig in bestimmten Zeitabständen, so daß das Virus den neuesten Impfstoffen im Durchschnitt ein Jahr voraus ist (32, 49). Ein weiterer Grund liegt in der bei jeder parenteralen Impfung bestehenden Gefahr der

Provokation einer Infektion bei bereits inkubierten Patienten, was besonders bei Mässenimpfungen zu berücksichtigen ist (69).

Da sich das Influenzavirus auf der respiratorischen Schleimhaut vermehrt und diese schädigt, bietet sich eine Aktivierung der lokalen Immunabwehr durch eine lokale Impfung - sei es durch Inhalation, sei es durch intranasale Gabe - geradezu an.

Schon 1950 zeigte FAZEKAS DE ST. GROTH, daß eine Resistenz gegen Influenzavirusinfektion ziemlich unabhängig vom spezifischen Serumantikörperspiegel, aber streng positiv korreliert ist mit dem spezifischen Antikörperspiegel im Respirationstrakt (16). Die Arbeitsgruppe um WALDMAN konnte in mehreren Feldversuchen zeigen, daß eine Inhalationsimmunisierung mit kommerziellen, inaktivierten Influenzavirusimpfstoffen einen besseren Impfschutz gegen eine Influenzavirusinfektion verleiht als die parenterale Gabe des Impfstoffes, besonders dann,wenn zwei bis drei Wochen nach der Erstimpfung ein Booster folgt. Nebenwirkungen traten bei der Inhalationsimpfung praktisch keine auf. Der Impferfolg war mit monovalentem Impfstoff größer als mit bivalentem. Im Falle einer Influenzaerkrankung war deren Verlauf bei der lokal geimpften Gruppe leichter und kürzer im Vergleich mit der parenteral geimpften Gruppe (101, 102, 106). In der lokal immunisierten Gruppe persistierten die sekretorischen Antikörper länger als bei den parenteral Geimpften. Auch Patienten mit chronischen respiratorischen Erkrankungen zeigen eine gute lokale Immunantwort nach Inhalationsimpfung. Die spezifischen neutralisierenden Antikörper nach Inhalation von inaktivierten Influenzaimpfstoffen gehören der Immunglobulin A-Klasse an. Die Partikelgröße der Aerosole kann für eine erfolgreiche Immunisierung zwischen 1,5 - 100 µm betragen, die beste nasale Antikörperantwort wurde erreicht mit Aerosolen mit einer Partikelgröße von 40 - 100 µm (105, 109). PROVOST et al. (54) immunisierten Mäuse vergleichend subkutan, intraperitoneal und intranasal mit inaktivierter Influenzavakzine. Nur bei Immunisierung und Infektion mit einem homologen B-Stamm war die Schutzrate bei allen Impfmodi gleich, bei Versuchen mit homologen und heterologen A-Stämmen war auch hier der Impfschutz nach intranasaler Impfung besser als nach subkutaner. Die Schutzrate nach intraperitonealer Immunisierung entsprach der nach

intranasaler Impfung, was sich die Autoren dadurch erklären, daß bei der intranasalen Impfmethode ein Teil des Impfstoffes nicht bis in den unteren Respirationstrakt gelangt. Aber bei Infektion mit einem heterologen Stamm war der Impfschutz nach intranasaler Antigengabe besser als nach intraperitonealer; zu gleichen Ergebnissen waren WALDMAN et al. (108) gelangt. Beide Arbeitsgruppen erklären das mit der Annahme, daß die Antigenspezifität des lokal gebildeten sekretorischen 11 S - IgA geringer ist als die des Serum IgG.

Auch die lokale zellvermittelte Immunität (cell-mediated immunity), auch zelluläre oder T-zellabhängige Immunität genannt, wird durch lokale Immunisierung aktiviert, und zwar unabhängig von der systemischen zellvermittelten Immunität, wie mit dem Makrophagenhemmtest im Tierversuch gezeigt werden konnte. Durch Antigen stimulierte Lymphozyten sezernieren den macrophage inhibition factor (MIF), wodurch die Makrophagen am Ort des Krankheitsgeschehens verbleiben und vermehrt phagozytieren (24, 107). Die für ein bestimmtes Antigen spezifischen T-Lymphozyten bewirken im Zusammenspiel mit B-Lymphozyten die spezifische Immunität. Außerdem werden aber auch andere, für dieses Antigen nicht spezifische T-Lymphozyten aktiviert, die nun ihrerseits unspezifische Abwehrmechanismen in Gang setzen. Sie wirken einerseits selbst zytotoxisch, andererseits stimulieren sie durch Abgabe von verschiedenen Sekretionsprodukten mononukleäre Phagozyten (Monozyten und Gewebsmakrophagen). So gelangen z.B. durch chemotaktische Faktoren Monozyten in großer Anzahl aus der Blutbahn zum Infektionsherd. Durch den schon erwähnten Migrationshemmfaktor (MIF) werden sie dort festgehalten und zu verstärkter Phagozytose angeregt. Weiterhin wird eine rasche Proliferation der mononukleären Phagozyten bewirkt und eine Erhöhung ihrer Stoffwechselaktivitäten (2, 43).

Die Phagozytose spielt wohl bei der unspezifischen Immunabwehr die wichtigste Rolle. Die Opsonierung, das Komplement- und das Properdinsystem unterstützen die Phagozytose (91). Durch die Opsonierung wird die Oberfläche der Keime so verändert, daß die Phagozytose erleichtert wird. Als Opsonine wirken spezifische Antikörper, das Komplementsystem, das Properdinsystem und verschiedene andere Stoffe, z.B. Histione und basische Proteine

(50). Zu den letztgenannten gehört das Lysozym, das neben seiner opsonierenden Wirkung für manche Bakterien bakterizid ist und wahrscheinlich auch virustatisch wirkt (23) und das auch mit IgA zusammenwirken kann (30). SCHULZE immunisierte Mäuse oral oder parenteral mit S. typhi murium oder mit Streptokokken der B-Gruppe und wertete dann in einem in vitro-Test die Phagozytoseaktivität der Peritonealmakrophagen aus. Es konnte nachgewiesen werden, daß nach oraler Immunisierung die Phagozytosesteigerung ebenso groß ist wie nach parenteraler Immunisierung und daß sie größer ist gegenüber dem heterologen Keim (85). In einem weiteren Versuch konnten SCHULZE et al. zeigen, daß die Steigerung der Phagozytoserate schon nach der ersten lokalen Antigengabe einsetzt, einen Gipfel zwischen dem 11. und 15. Tag erreicht, dann langsam abfällt, um am 36. Tag die Normalwerte zu erreichen (86). KLUGER führte den Phagozytosetest mit Alveolarmakrophagen nach vorheriger Inhalationsimmunisierung durch und konnte auch hier eine Steigerung der Phagozytoserate gegenüber nichtimmunisierten Kontrollen und eine bessere Wirkung gegenüber dem heterologen Keim nachweisen (34). Auch Viren werden phagozytiert, doch können sie sich auch noch in den Makrophagen vermehren, was für viele Viren in vitro nachgewiesen wurde (22). Bei immunisierten Tieren wird jedoch die Vermehrung innerhalb der Makrophagen stark reduziert. SHAYEGANI et al. immunisierten Mäuse parenteral oder per inhalationem mit Influenzavirus oder mit Staphylococcus aureus + Staphylokokkenantigen. Sie konnten zeigen, daß die Vermehrung des Influenzavirus in den Peritonealmakrophagen der homolog oder heterolog immunisierten Mäuse stark eingeschränkt ist im Gegensatz zu den nichtimmunisierten Tieren. Die Inhalationsimmunisierung wirkte in beiden Systemen - gemessen an der Überlebenszeit der mit dem Influenzavirus infizierten Tiere - etwas besser als die parenterale Immunisierung (87). Ein anderer Faktor, der in der unspezifischen Immunabwehr gegen Viren eine Rolle spielt, ist das Interferon, das 1957 erstmals von ISAACS und LINDEMANN beschrieben wurde. Interferon ist ein Protein, das von vielen Zellarten gebildet werden kann, wenn diese mit lebenden oder inaktivierten Viren stimuliert werden. Interferon hemmt die Virusvermehrung. Bei bestehender Hypogammaglobulinämie werden

im Gegensatz zu bakteriellen Infekten die Virusinfekte gut abgewehrt, was wohl vorwiegend dem Interferon zuzuschreiben ist (30).

Seit Jahren befindet sich der polyvalente Lysatimpfstoff I.R.S.19 im Handel, der die am häufigsten bei Infektionen des Respirationstraktes vorkommenden Bakterien enthält. Er wird lokal mittels Inhalation oder Nasenspray gegeben und meist therapeutisch angewendet. Infekte im HNO-Bereich und Bronchitiden führen durch die Schleimhautirritation zu einer Erschöpfung des lokalen IgA-Systems, wodurch es dann leicht zu einer neuen Infektion kommt, also ein circulus vitiosus, der zu häufig rezidivierenden und schließlich chronischen Infekten führt. Die Berichte über die Behandlung mit dem polyvalenten Lysatimpfstoff sind durchweg ermutigend (78, 89, 97). Durch die Stimulierung des lokalen Immunitätsmechanismus kommt es in den meisten Fällen zur Unterbrechung des vorher beschriebenen circulus vitiosus und damit zur Normalisierung der Schleimhautverhältnisse und weitgehenden Rezidivfreiheit. WERNER konnte in bioptisch gewonnenem Bronchialgewebe immunfluoreszenzmikroskopisch darstellen, daß nach der Inhalationsimpfung mit dem polyvalenten Bakterienlysat eine Vermehrung antikörperbildender Zellen in der Lamina propria der Bronchialschleimhaut auftrat. Die Antikörper gehören der IgA-Klasse an und sind spezifisch gegen Keime des Lysats (115). RAUTENBERG konnte nach Inhalationsimpfung von Mäusen mit dem polyvalenten Bakterienlysat eine signifikante Steigerung der Phagozytose der Alveolarmakrophagen nachweisen (77). WALTER erzielte einen Impfschutz gegen Influenzavirusinfektion nach Inhalationsimmunisierung mit dem polyvalenten Bakterienlysat (113).

Zusammenfassend ergibt sich aus den veröffentlichten Arbeiten, daß in der Lamina propria der Schleimhaut ein selbständiges Immunabwehrsystem lokalisiert ist, das besonders durch lokale Antigengabe, die den natürlichen Infektionsweg nachahmt, stimuliert wird (71). Der in der Schleimhaut gebildete Antikörper gehört der IgA-Klasse an und wird in den Epithelzellen aktiv als 11 S-IgA auf die Oberfläche der Schleimhaut sezerniert. Die sezernierten Antikörper sind spezifisch gegen das verabfolg-

te Antigen, doch sind sie nicht so strukturspezifisch wie IgG, so daß sie ein größeres Spektrum strukturverwandter Antigene inaktivieren können (94). Weiterhin konnte gezeigt werden, daß durch lokale Antigengabe eine unspezifische lokale T-Lymphozyten-abhängige Immunabwehr induziert werden kann (43, 91).

Ein Weg, um die in Abständen mit immer wieder veränderter Antigenität auftretenden Influenza-Epi- und Pandemien einzuschränken, könnte eine breit gefächerte lokale spezifische und unspezifische Immunprophylaxe sein. Zumal eine lokale Impfung ohne Gefahr noch während der Inkubationszeit durchgeführt werden kann (69).

Eine zusätzliche lokale bakterielle Immunprophylaxe könnte ein guter Schutz gegen die bei der Influenzavirusinfektion häufig auftretenden und oft zu schweren Komplikationen führenden bakteriellen Superinfektionen sein.

Am Modell der weißen Maus sollte nun gezeigt werden, daß sich der Impfschutz gegen eine Influenzavirusinfektion, der nach Immunisierung mit einem spezifischen bzw. mit einem unspezifischen Impfstoff erreicht wird, noch verbessern läßt, wenn man diese Impfstoffe kombiniert anwendet.

B. Material und Methoden

1) Versuchstiere: Es wurden NMRI-Mäuse (Naval Medical Research Institute) aus der Zucht des Robert Koch-Institutes verwendet. Das Gewicht der Tiere betrug bei Versuchsbeginn ca. 12 g - 14 g. Die Tiere wurden zu je 25 in Plastikkäfigen gehalten und erhielten Trockenfutter "Herilan" und Leitungswasser. Die Kontrolltiere lebten unter den gleichen Bedingungen.

2) Impfstoff: Für die Immunisierung wurden folgende Impfstoffe verwendet:

a) der mit Formaldehyd inaktivierte kommerzielle Influenza-Impfstoff Begrivac S (Behringwerke AG., Marburg/Lahn). Nach Angabe des Herstellers enthalten 0,5 ml Suspension extrahierte Influenzavirus-Antigene vom

Typ A (H_3N_2)	Stamm Scotland/840/74	400 I.E.
	" Chalmers/1/73	200 I.E.
Typ B	" Hongkong/8/73	200 I.E.

Aluminiumhydroxid 0,75 mg
Natriumtimerfonat 0,005 mg.

b) der kommerzielle Polyvakzine-Lysat-Impfstoff I.R.S. 19 der Fa. Sarbach (Lizenz und Vertrieb in Deutschland: Hefa-Frenon, Arzneimittel, 4712 Werne). Nach Angabe des Herstellers enthält er die in 10 %igem Glykokoll gelösten Bestandteile folgender Bakterien:

Diplococcus pneumoniae, Typ I	1,100 ml
Diplococcus pneumoniae, Typ II	1,100 ml
Diplococcus pneumoniae, Typ III	1,100 ml
Diplococcus pneumoniae, Typ V	1,100 ml
Diplococcus pneumoniae, Typ VIII	1,100 ml
Diplococcus pneumoniae, Typ XII	1,100 ml
Streptococcus pyogenes, Gruppe A	1,665 ml
Streptococcus pyogenes, Gruppe C	1,665 ml
Streptococcus faecalis, Gruppe D (S19)	0,832 ml
Streptococcus faecalis, Gruppe D (S105)	0,832 ml
Streptococcus pyogenes, Gruppe G	1,665 ml

Micrococcus pyogenes, var. aureus	6,66 ml
Gaffkya tetragena	3,33 ml
Neisseria catarrhalis	2,22 ml
Neisseria flava	2,22 ml
Neisseria perflava	2,22 ml
Haemophilus influenza	3,33 ml
Klebsiella pneumoniae	6,66 ml
Moraxella	3,33 ml
Na-Aethylmercurithiosalicylat	0,0025 g
Neroli-Essenz	0,0025 g
dem. Wasser	100 ml

Jeder ml Lysat entspricht dem Antigengehalt einer mikrobiellen Suspension von 15 Milliarden Erregern.

3) Immunisierung: Es wurden 3 verschiedene Immunisierungsmodi angewendet:

a) Immunisierung per inhalationem. Hierbei wurden jeweils 50 Tiere in einem Blech- bzw. Kunststoffbehälter einem Sprühnebel des Impfstoffes ausgesetzt, der durch ein "Pari-Aerosolgerät", wie es zur klinischen Therapie verwendet wird, erzeugt wurde. Die Teilchengröße betrug nach Angabe des Herstellers 0,5 - 5,5 µm. Das Gerät wurde so eingestellt, daß in 45 min. 10 ml Flüssigkeit vernebelt wurden. Dies entsprach einer Kompressorleistung von 10 l/min.

Die Tiere wurden dem Impfstoffnebel 45 min. ausgesetzt und blieben nach Abschalten des Gerätes noch 15 min. im Behälter, um diesen "leer zu atmen", so daß sich eine Expositionszeit von 60 min. ergibt.

b) Die Tiere erhielten 2 x tgl. je 0,05 ml Impfstoff intranasal mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette.

Bei a) und b) erfolgte die Immunisierung an 2 x 5 aufeinanderfolgenden Tagen, dazwischen 2 Tage Pause.

c) Die Tiere erhielten in leichter Aethernarkose je 0,1 ml Impfstoff intranasal am 1. und 5. Tag und wurden am 19. Tag mit 0,1 ml in gleicher Weise geboostert. Die Immunisierung, wie auch die leichte Aethernarkose, wurden von den Tieren gut vertragen.

4) Impfstoffdosis: Die vermutlich aufgenommene Antigenmenge wird bei der Inhalationsimmunisierung nach einer vereinfachten Formel nach BOLOTOVSKII (5) berechnet:

$$x = f \cdot \frac{V}{L}$$

x = Gesamtgewicht der Tropfen in der Kammer

f = Durchschnittswert der erzeugten Konzentration des Sprays (g/min) = 2,5 g/45 min. für Begrivac S und 10 g/45 min. für I.R.S. 19

V = Kammervolumen in Liter = 30 l

L = Leistung des Kompressors = 10 l/min

Für Begrivac S gilt:

$$x = \frac{2{,}5 \text{ g} \cdot 30 \text{ l} \cdot \text{min}}{45 \text{ min} \cdot 10 \text{ l}} = \frac{2{,}5}{15} \text{ g} = \frac{2{,}5}{450} \text{ g/l} = \frac{0{,}25}{45} \text{ g/l} = \frac{0{,}25}{45000} \text{ g/ml}$$

Atemvolumen der weißen Maus (44) : 1,1 ml/min pro g Körpergewicht. Durchschnittsgewicht der Tiere während der Immunisierung: 20 g. Daraus folgt für die vermutlich aufgenommene Antigenmenge A:

$$A = \frac{0{,}25 \cdot 1{,}1 \cdot 20 \cdot Z}{45000} \text{ g} = \frac{0{,}55 \cdot Z}{4500} \text{ g} \quad (Z = \text{Expositionszeit in min})$$

1 g Begrivac S enthält 1600 I.E. Influenzavirus-Antigene. Daraus folgt: vermutlich aufgenommene Dosis (A) von Influenzavirus-Antigenen:

$$\frac{8{,}8 \cdot Z}{45} = \frac{8{,}8 \cdot 600}{45} = 117{,}3 \ldots \text{ I.E.}$$

Für I.R.S. 19 gilt:

$$\frac{10 \text{ g} \cdot 30 \text{ l} \cdot \text{min}}{45 \text{ min} \cdot 10 \text{ l}} = \frac{2}{3} \text{ g} = \frac{1}{45} \text{ g/l} = \frac{1}{45000} \text{ g/ml}$$

$$A = \frac{1 \cdot 1{,}1 \cdot 20 \cdot Z}{45000} \text{ g} = \frac{22 \cdot Z}{45000} \text{ g}$$

1 g I.R.S. 19 enthält die Antigenmenge von $15 \cdot 10^9$ Keimen. Daraus folgt: vermutlich aufgenommene Dosis (A) von I.R.S. 19-Keimen:

$$\frac{11}{1500} \cdot Z \cdot 10^9 = 4{,}4 \cdot 10^9 \text{ Keime.}$$

Bei der intranasalen Immunisierung ohne Narkose erhielten die Tiere an 2 x 5 aufeinanderfolgenden Tagen 2 x tgl. 0,05 ml = 1 ml Impfstoff. Daraus ergibt sich für Begrivac S = 1600 I.E., für I.R.S. 19 = 15 · 10^9 Keime.

Bei der intranasalen Immunisierung in Narkose erhielten die Tiere 3 x 0,1 ml = 0,3 ml Impfstoff. Daraus folgt für die einzelnen Gruppen:

	Begrivac S:	480 I.E.
oder	Begrivac S:	240 I.E. + NaCl
oder	Begrivac S:	240 I.E. + I.R.S. 19 : 2,25 · 10^9 Keime
oder	I.R.S. 19 :	4,5 · 10^9 Keime.

5) Virus: Zur Infektion wurde das mäusepathogene Influenzavirus A/PR8/34 verwendet, das nach 48stündigem Wachstum auf bebrüteten Hühnereiern geerntet und auf einen Hämagglutinationstiter von 1 : 1280 eingestellt wurde.

Da mir am Beginn der Versuchsreihe nicht gleich genügend Influenzavirussuspension zur Verfügung stand, entnahm ich infizierten, frisch verstorbenen Mäusen unter sterilen Bedingungen die Lungen, die dann sofort tiefgefroren wurden. Zur Infektion wurde der Überstand der homogenisierten, mit NaCl verdünnten und 10 min. bei 2000 U/min. zentrifugierten Lungen verwendet.

6) Infektion: Die Tiere wurden am 7., 10., 12. oder 14. Tag nach der letzten Immunisierung infiziert, indem sie in leichter Aethernarkose 0,05 ml des Infektionsmaterials intranasal mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette erhielten.

Die Endmortalität der Kontrolltiere lag bei Infektion mit Virussuspension zwischen 50 % und 65 %, bei Infektion mit Lungenhomogenisat zwischen 55 % und 85 %.

C. Ergebnisse

Aus dem Tiermaterial von insgesamt 2 739 Mäusen ist zu ersehen, daß sowohl eine spezifische als auch eine unspezifische Inhalationsimmunisierung der Maus einen Impfschutz gegenüber einer Infektion mit mäusepathogenem Influenzavirus A/PR8/ 34 verleiht. Bei der Zusammenfassung mehrerer Einzelversuche zeigt dieser Schutz eine statistische Signifikanz, die für die spezifische Immunität etwas höher liegt als für die unspezifische.

Ebenso wird durch eine in Aethernarkose durchgeführte intranasale spezifische oder unspezifische Immunisierung ein Impfschutz bewirkt; bei Anwendung einer Mischung von spezifischem und unspezifischem Impfstoff im Verhältnis 1 : 1 ist der Impfschutz auch bei kleinen Versuchstierzahlen statistisch signifikant.

Dagegen zeigt eine intranasale Immunisierung ohne Aethernarkose bei der Maus keinen Impferfolg.

Die Ergebnisse im einzelnen:

Vorversuche:

1) Eine intranasale Infektion ohne Aethernarkose ging bei den Tieren nicht an, es kam weder zu sichtbaren Krankheitserscheinungen noch zur Mortalität.

2) Um eine Aspirationspneumonie als Todesursache bei der Infektion auszuschließen, "infizierte" ich mit Aether narkotisierte Mäuse intranasal mit NaCl. Es trat keine Mortalität ein, auch zeigten die Tiere keinerlei Krankheitserscheinungen.

Hauptversuche:

Versuch Ia - Id (Tab. 1 - 4; Abb. 1 - 4): Die Tiere wurden per inhalationem spezifisch immunisiert und am 7. Tag nach der letzten Immunisierung mit Lungenhomogenisat in einer Verdünnung von 1 : 20 bzw. 1 : 100 infiziert. Es entstand kein Impfschutz der Immuntiere gegenüber den Kontrolltieren. Die Mortalität lag mit durchschnittlich 70 % sehr hoch; im Versuch Ic lag die Mortalität der Immuntiere höher als die der Kontrolltiere.

Es wurde eine Lungenzerreibung einer infizierten Maus elektronenmikroskopisch untersucht. Influenzavirus-ähnliche Partikel

wurden nicht nachgewiesen, aber eine größere Zahl an Mykoplasmen erinnernde Strukturen. In der Lungenzerreibung einer unbehandelten Maus wurden solche Strukturen nicht gefunden.

Tabelle 1

Vers. Ia: Inhalation (Begrivac S)
Inf.: 7. Tag (Lungenhomogenisat)
1 : 20

	Immuntiere 50		Kontrollen 50	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges. Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	1	2	-	-
4	13	28	12	24
5	15	58	18	60
6	3	64	4	68
7	1	66	2	72
8	-	66	1	74
9	-	66	-	74
10	-	66	-	74

Tabelle 2

Vers. Ib: Inhalation (Begrivac S)
Inf.: 7. Tag (Lungenhomogenisat)
1 : 20

	Immuntiere 50		Kontrollen 50	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	1	2	3	6
5	21	44	22	50
6	12	68	13	76
7	2	72	2	80
8	1	74	2	84
9	-	74	-	84
10	-	74	-	84

Tabelle 3

Vers. Ic: Inhalation (Begrivac S)
Inf.: 7. Tag (Lungenhomogenisat)
1 : 100

	Immuntiere 63		Kontrollen 76	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	4	6,3	5	6,6
6	31	55,6	29	44,6
7	10	71,4	9	56,6
8	-	71,4	-	56,6
9	-	71,4	-	56,6
10	-	71,4	-	56,6

Tabelle 4

Vers. Id: Inhalation (Begrivac S)
Inf.: 7. Tag (Lungenhomogenisat)
1 : 100

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	8	8	11	11
5	31	39	24	35
6	15	54	27	62
7	8	62	6	68
8	3	65	4	72
9	-	65	2	74
10	-	65	-	74

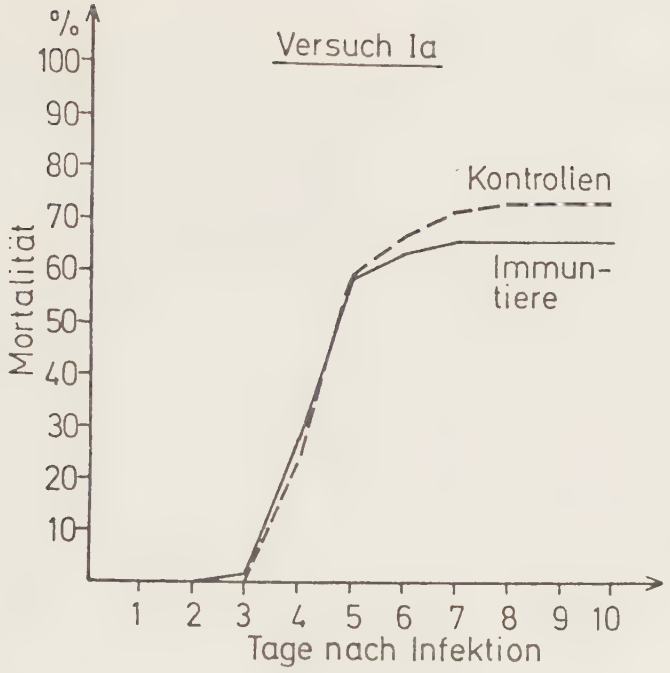

Versuch Ia
%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
Mortalität
Kontrollen
Immun-
tiere
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Tage nach Infektion

Abb. 1

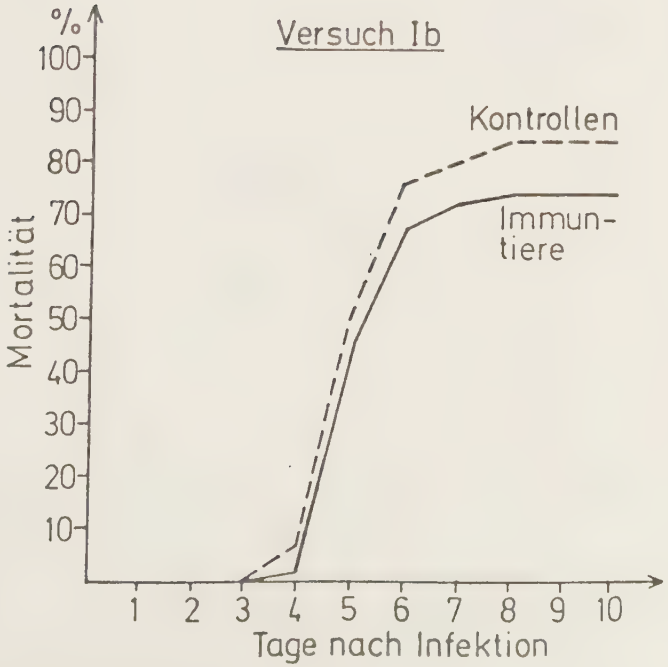
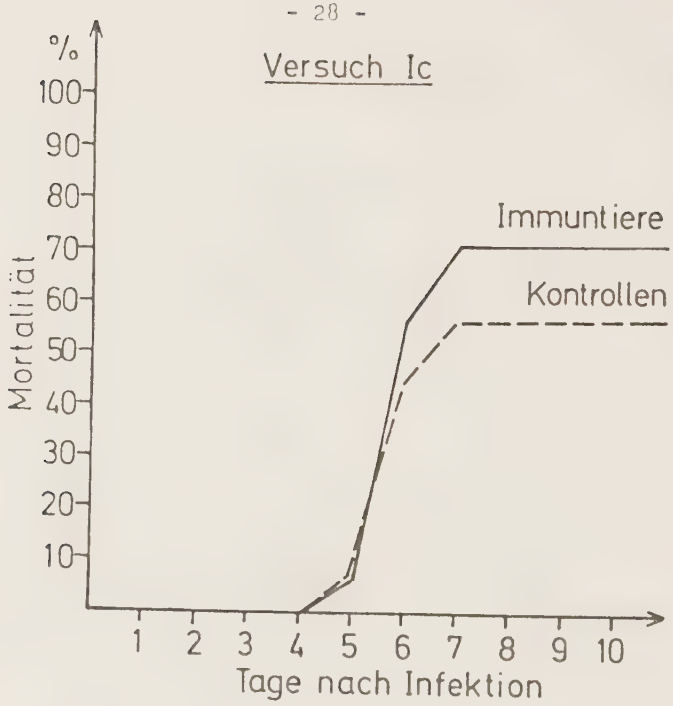

Versuch Ib
%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
Mortalität
Kontrollen
Immun-
tiere
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Tage nach Infektion

Abb. 2

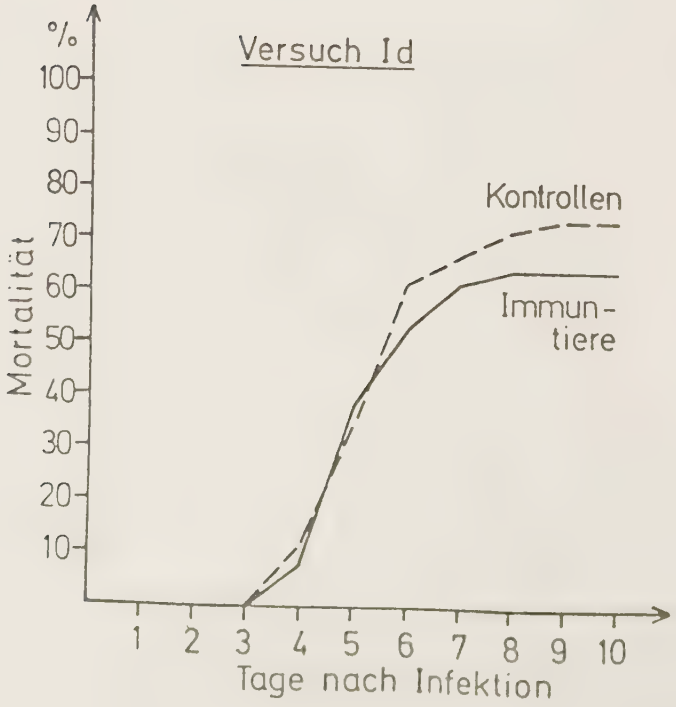
Versuch Ic

Abb. 3



Versuch Id

Abb. 4



Versuch IIa - IIc (Tab. 5 - 7; Abb. 5 - 7): Die Tiere wurden per inhalationem spezifisch immunisiert und am 7. bzw. 10. bzw. 12. Tag nach der letzten Immunisierung mit Virussuspension infiziert. Ein Unterschied in Bezug auf die verschiedenen Infektionstage besteht nicht. In allen drei Versuchen sind die Immuntiere gegenüber den Kontrollen teilweise gegen eine Infektion geschützt.

Versuch IIIa - IIIc (Tab. 8 - 10; Abb. 8 - 10): Die Tiere wurden per inhalationem unspezifisch immunisiert und am 7. bzw. 10. bzw. 12. Tag nach der letzten Immunisierung mit Virussuspension infiziert. Auch hierbei zeigte sich kein Unterschied in Bezug auf die verschiedenen Infektionstage. Es trat auch hier in allen drei Versuchen ein teilweiser Impfschutz der Immuntiere gegenüber den Kontrollen auf, im Durchschnitt geringer als bei spezifisch Immunisierten.

Tabelle 5

Vers. IIa: Inhalation (Begrivac S)

Inf.: 7. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	9	9	12	12
5	24	33	27	39
6	12	45	15	54
7	4	49	9	63
8	2	51	2	65
9	-	51	-	65
10	-	51	-	65

Tabelle 6

Vers. IIb: Inhalation (Begrivac S)

Inf.: 10. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	10	10	9	9
5	20	30	26	35
6	9	39	16	51
7	7	46	11	62
8	2	49	2	64
9	-	49	1	65
10	-	49	-	65

Tabelle 7

Vers. IIc: Inhalation (Begrivac S)
Inf.: 12. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	2	2
4	11	11	13	15
5	16	27	26	41
6	15	42	16	57
7	9	51	6	63
8	1	52	3	66
9	-	52	-	66
10	-	52	-	66

Tabelle 8

Vers. IIIa: Inhalation (I.R.S. 19)
Inf.: 7. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	11	11	4	4
5	23	34	32	36
6	5	39	13	49
7	3	42	4	53
8	1	43	2	55
9	-	43	2	57
10	-	43	-	57

Tabelle 9

Vers. IIIb: Inhalation (I.R.S. 19)
Inf.: 10. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	3	3	-	-
4	11	14	10	10
5	22	36	24	34
6	8	44	15	49
7	3	47	8	57
8	2	49	2	59
9	-	49	2	61
10	-	49	-	61

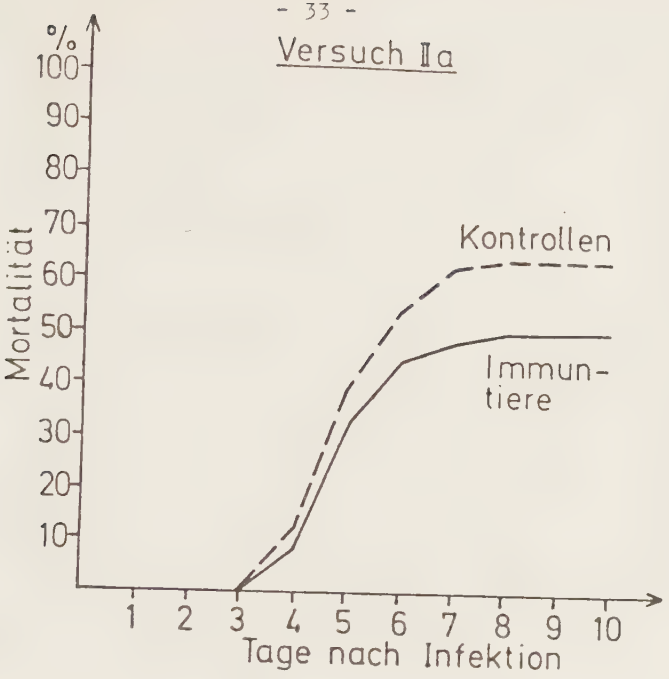
Tabelle 10

Vers. IIIc: Inhalation (I.R.S. 19)
Inf.: 12. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	4	4
4	15	15	8	12
5	16	31	15	27
6	10	41	14	41
7	8	49	18	59
8	2	51	4	63
9	-	51	-	63
10	-	51	-	63

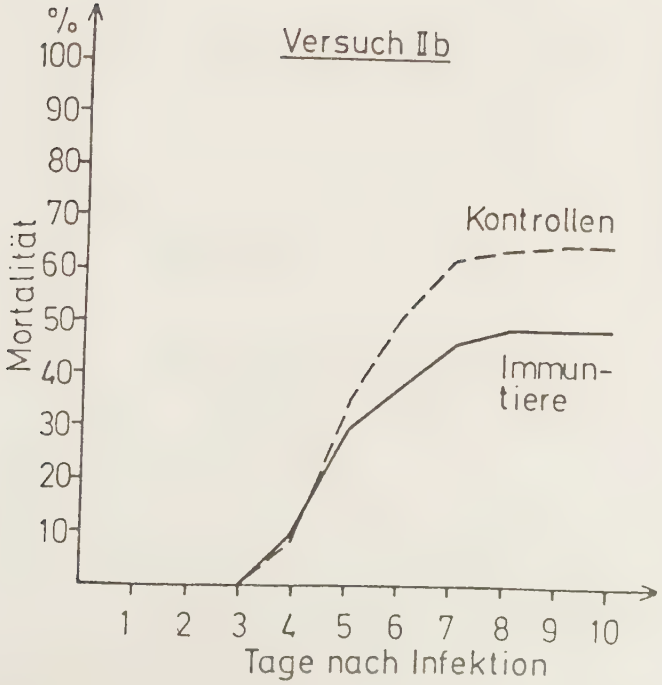
Versuch IIa

Abb. 5



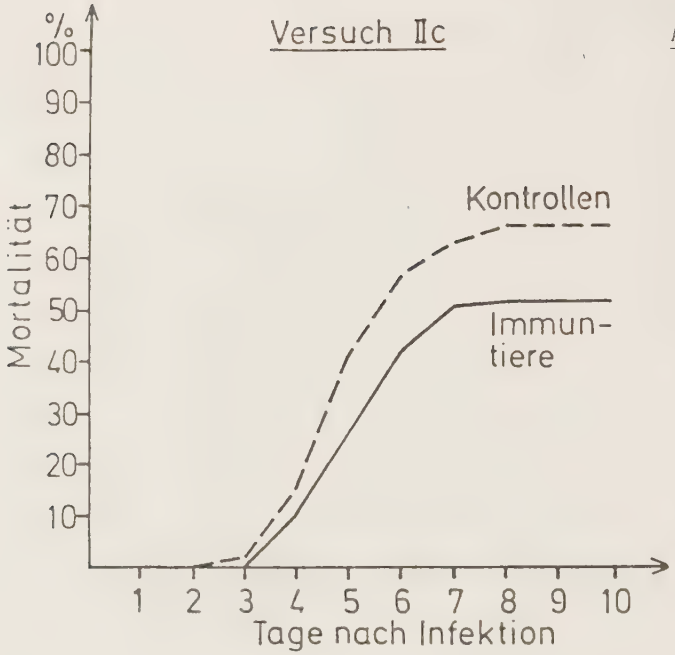
Versuch IIb

Abb. 6



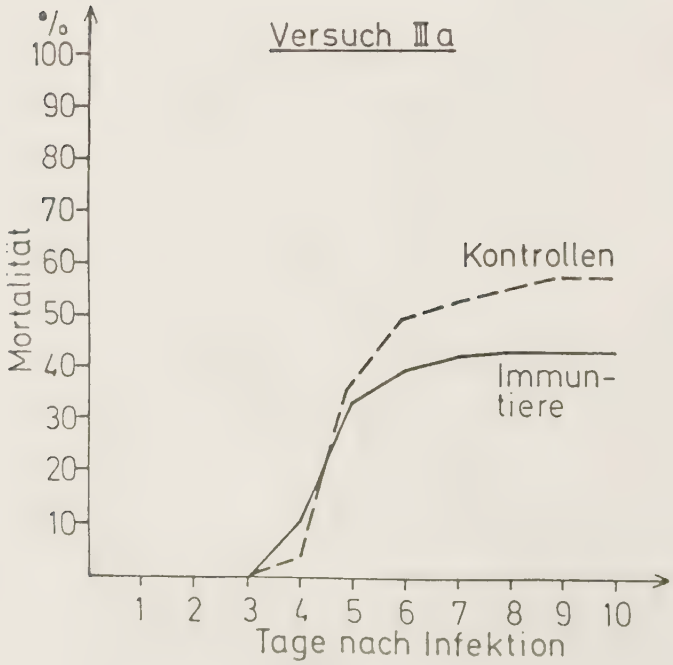
Versuch IIc

Abb. 7



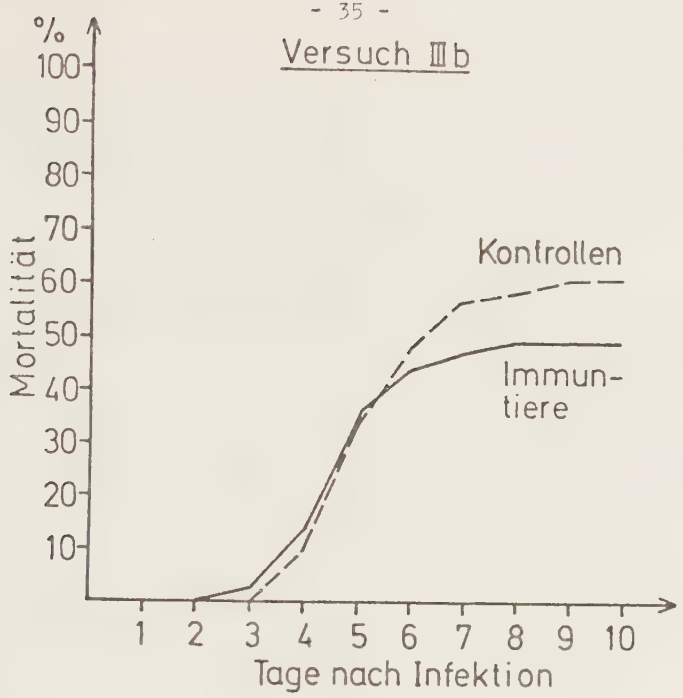
Versuch IIIa

Abb. 8



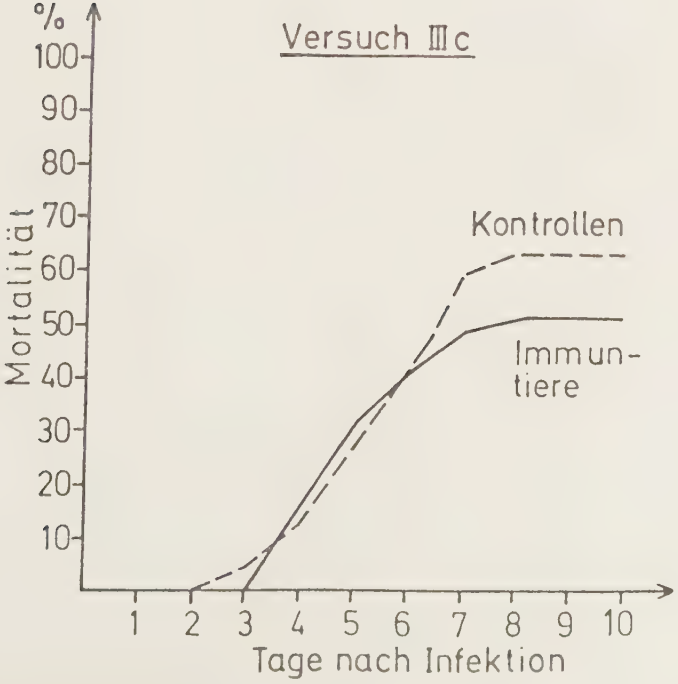
Versuch IIIb

Abb. 9



Versuch IIIc

Abb. 10



Versuch IV (Tab. 11; Abb. 11): Die Tiere wurden ohne Narkose intranasal spezifisch immunisiert und am 14. Tag nach der letzten Immunisierung mit Virussuspension infiziert. Die Mortalität der Immuntiere lag etwas höher als bei den Kontrollen.

Versuch V (Tab. 12; Abb. 12): Hier wurde wie im Versuch IV verfahren, nur wurde unspezifisch immunisiert. Es trat kein Impfschutz ein.

Tabelle 11

Vers. IV: intranasal
(Begrivac S; ohne Narkose)
Inf.: 14. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	2	2	7	7
5	30	32	19	26
6	9	41	13	39
7	6	47	7	46
8	7	54	6	52
9	2	56	2	53
10	-	56	-	53

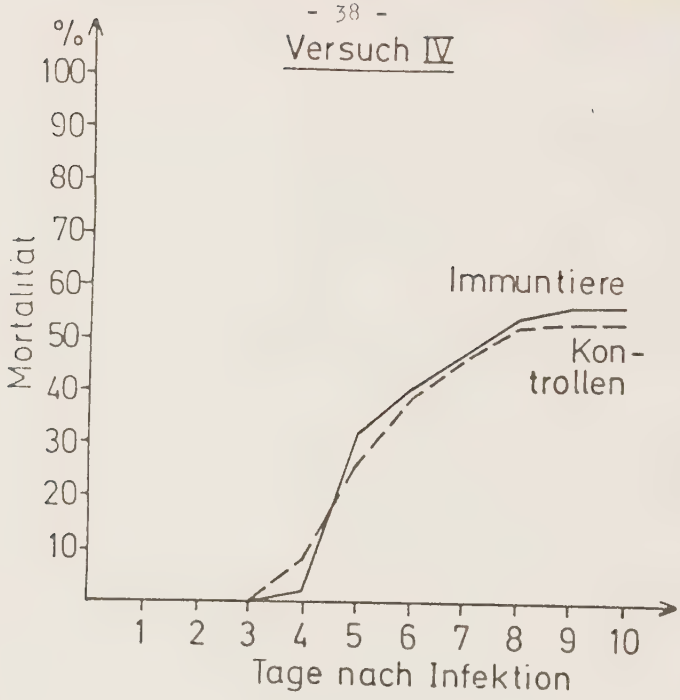
Tabelle 12

Vers. V: intranasal
(I.R.S. 19; ohne Narkose)
Inf.: 14. Tag (Virus)

	Immuntiere 100		Kontrollen 100	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	2	2	1	1
4	7	9	12	13
5	18	27	9	22
6	7	34	12	34
7	15	49	21	55
8	7	56	7	62
9	3	59	2	64
10	-	59	-	64

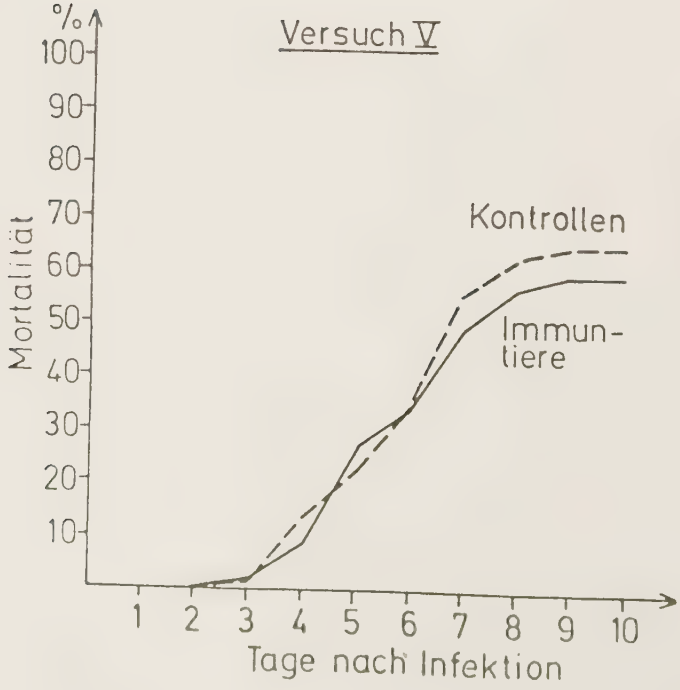
Versuch IV

Abb. 11



Versuch V

Abb. 12



Versuch VIa (Tab. 13; Abb. 13): Es wurde die Immunisierung mit dem spezifischen, dem unspezifischen und einer Mischung beider Impfstoffe im Verhältnis 1 : 1 verglichen. Die Anwendung erfolgte intranasal in leichter Aethernarkose, und zwar am 1. und 5. Tag mit je 0,1 ml, und am 19. Tag wurde mit 0,1 ml in gleicher Weise geboostert. Die Kontrolltiere erhielten in gleicher Dosierung NaCl. Die Infektion mit Virussuspension erfolgte am 7. Tag nach dem Booster.

Die höchste Mortalität trat bei den nur spezifisch immunisierten Tieren ein und lag weit höher als die der Kontrollen. Hingegen zeigten die im Verhältnis 1 : 1 spezifisch und unspezifisch immunisierten Tiere einen guten Impfschutz. Die Mortalität der nur unspezifisch immunisierten Tiere lag fast ebenso hoch wie die der Kontrollen.

Versuch VIb (Tab. 14; Abb. 14): Dosierung und Impfrhythmus wurden wie in Versuch VIa gestaltet, auch erfolgte die Infektion wieder am 7. Tag nach dem Booster. Die Immunisierung mit dem unspezifischen und mit der Mischung aus unspezifischem und spezifischem Impfstoff im Verhältnis 1 : 1 wurde beibehalten. Da aus den Ergebnissen des Versuches VIa anzunehmen ist, daß NaCl auch einen gewissen unspezifischen Schutz verleiht, erhielten die Kontrollen diesmal kein NaCl. Weiterhin zeigt der vorige Versuch, daß anscheinend 3 x 0,1 ml Begrivac S von den Tieren nicht vertragen wird und zu einer Resistenzminderung führt. Deshalb wurde Begrivac S mit NaCl im Verhältnis 1 : 1 verabreicht.

Wieder stellte sich der beste Impferfolg bei einer Mischung von spezifischem und unspezifischem Impfstoff ein und ist in diesem Versuch mit einem Echtheitsgrad von 1,22 statistisch gesichert. Auch die nur spezifische oder nur unspezifische Impfung verleiht einen teilweisen Schutz, die spezifische einen etwas besseren als die unspezifische.

Versuch VIc (Tab. 15; Abb. 15): Auch hier erhielten die Tiere, wie im vorhergehenden Versuch, in leichter Aethernarkose intranasal am 1. und 5. Tag je 0,1 ml Impfstoff und wurden am 19. Tag in gleicher Weise geboostert. Eine Gruppe er-

hielt Begrivac S und NaCl im Verhältnis 1 : 1, eine zweite Gruppe Begrivac S und I.R.S. 19 im Verhältnis 1 : 1, eine dritte Gruppe nur I.R.S. 19, und eine vierte Gruppe blieb unbehandelt. Die Infektion erfolgte am 7. Tag nach dem Booster. Ebenso wie im Versuch VIa und VIb ergab die Mischung von spezifischem und unspezifischem Impfstoff den besten Impferfolg. Er ist mit einem Echtheitsgrad von E = 1,44 statistisch gesichert. Auch die nur spezifische oder nur unspezifische Impfung ergab einen teilweisen Schutz, der für erstere etwas größer als für letztere ist.

Tabelle 13

Vers. VIa: intranasal in Narkose (3 x 0,1 ml)
Inf.: 7. Tag (Virus)

	Begrivac S + I.R.S.19 (1:1) 50		I.R.S. 19 50		Begrivac S 50		Kontrollen (NaCl) 50	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	5	10	8	16	15	30	9	18
5	3	16	9	34	11	52	9	36
6	3	22	4	42	8	68	6	48
7	2	26	4	50	3	74	2	52
8	2	30	1	52	2	78	3	58
9	-	30	-	52	-	78	-	58
10	-	30	-	52	-	78	-	58

Tabelle 14

Vers. VIb: intranasal in Narkose (3 x 0,1 ml)
Inf.: 7. Tag (Virus)

	Begrivac S + I.R.S.19 (1:1) 50		I.R.S. 19 50		Begrivac S + NaCl 50		Kontrollen 50	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	1	2	-	-	3	6
4	1	2	5	12	5	10	5	16
5	4	10	9	30	8	26	15	46
6	5	20	4	38	3	32	6	58
7	3	26	3	44	2	36	2	62
8	2	30	1	46	1	38	2	66
9	1	32	-	46	1	40	-	66
10	-	32	-	46	-	40	-	66

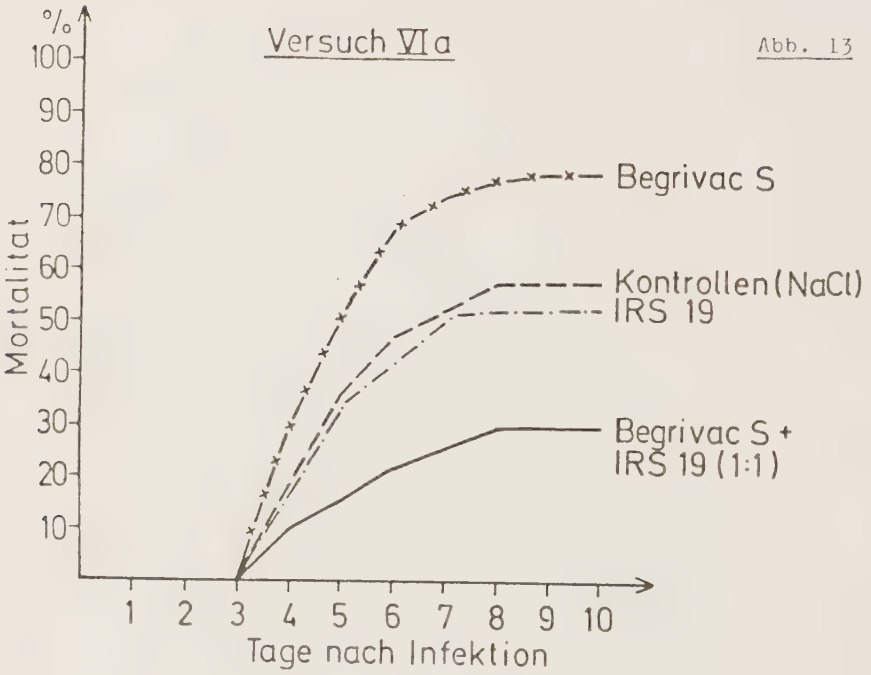
Tabelle 15

Vers. VIc: intranasal in Narkose (3 x 0,1 ml)
Inf.: 7. Tag (Virus)

	Begrivac S + I.R.S.19 (1:1) 50		I.R.S. 19 50		Begrivac S + NaCl (1:1) 50		Kontrollen 50	
Tag n. Inf.	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %	Zahl d. Gest.	Ges.-Mortalität in %
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	2	4	-	-	3	6
4	1	2	5	14	2	4	10	26
5	7	16	9	32	9	22	14	54
6	5	26	7	46	7	36	4	62
7	1	28	2	50	2	40	2	66
8	1	30	1	52	1	42	1	68
9	-	30	1	54	-	42	1	70
10	-	30	-	54	-	42	-	70

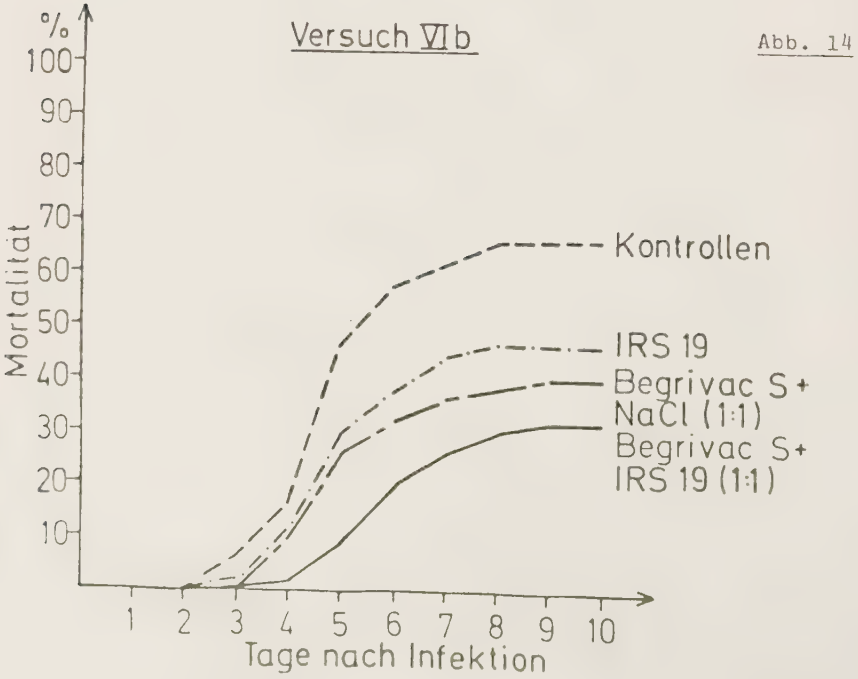
Versuch VI a

Abb. 13



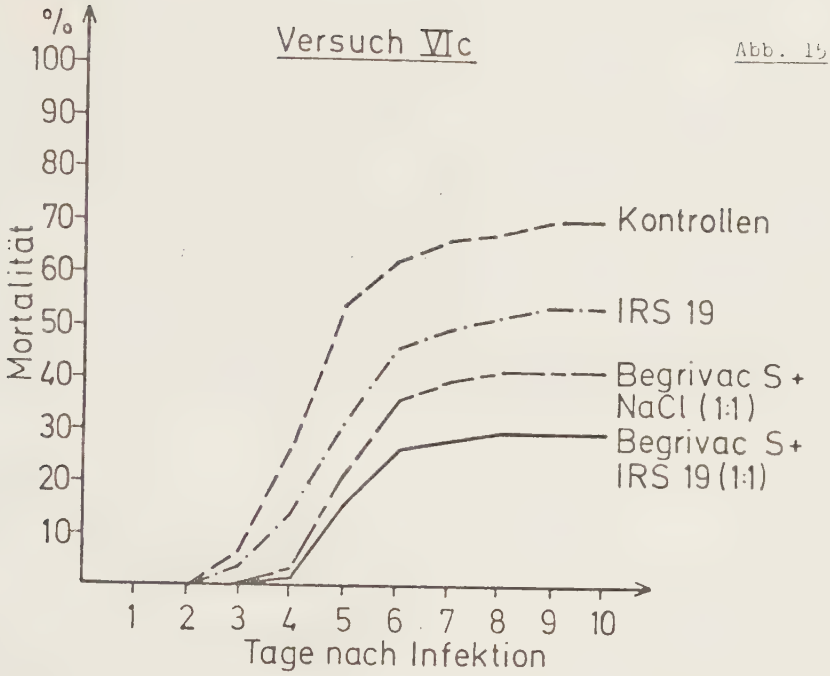
Versuch VI b

Abb. 14



Versuch VIc

Abb. 15



Statistische Sicherung

Faßt man die Ergebnisse der Versuche IIa, b und c (Tab. 16) bzw. IIIa, b und c (Tab. 17) zusammen, so läßt sich nach der Methode von KOLLER (36) mit einem Echtheitsgrad von E = 1,35 bzw. E = 1,16 statistisch sichern, daß eine Inhalationsimmunisierung mit einem homologen Keim bzw. mit heterologen Keimen gegen eine Influenzavirusinfektion einen signifikanten Schutz erzeugt. Der Impferfolg nach Immunisierung mit beiden Impfstoffen zusammen ist mit einem Echtheitsgrad von E = 1,22 (Vers. VIb), E = 1,44 (Vers. VIc) und E = 2,0 (Vers. VIb + VIc) statistisch gesichert (Tab. 18).

$$WI = \frac{(b - a)}{b} \times 100 \qquad E = \frac{D_b}{D_z}$$

WI = Wirkungsindex
a = Endmortalität der Immuntiere
b = Endmortalitä der Kontrolltiere

E = Echtheit der Differenz
D_b = beobachtete Differenz
D_z = höchstzulässige Zufallsdifferenz

n = Anzahl der Versuchstiere

Tabelle 16

Inhalationsimmunisierung mit Begrivac S; 2 x 5 Tage
Infektion: 7. bzw. 10. bzw. 12. Tag

	Immuntiere				Kontrollen					
Versuch-Nr.:	n	∔	% a	WI	n	∔	% b	D_b	D_z	E
IIa	100	51	51,0	21,5	100	65	65,0	14	18,0	0,78
IIb	100	49	49,0	26,2	100	65	65,0	16	18,1	0,83
IIc	100	52	52,0	21,2	100	66	66,0	14	17,9	0,78
Ga.	300	152	50,7	22,4	300	196	65,3	14,6	10,8	1,35

Tabelle 17

Inhalationsimmunisierung mit I.R.S. 19; 2 x 5 Tage
Infektion: 7. bzw. 10. bzw. 12. Tag

	Immuntiere				Kontrollen					
Versuch-Nr.:	n	✠	% a	WI	n	✠	% b	D_b	D_z	E
IIIa	100	43	43,0	24,6	100	57	57,0	14	19,4	0,72
IIIb	100	49	49,0	19,7	100	61	61,0	12	19,3	0,62
IIIc	100	51	51,0	19,0	100	63	63,0	12	19,1	0,63
Sa.	300	143	47,7	20,9	300	181	60,3	12,6	10,9	1,16

Tabelle 18

Intranasale Immunisierung in Narkose mit
Begrivac S + I.R.S. 19 (1:1) (3 x 0,1 ml)
Infektion: 7. Tag (Virus)

	Immuntiere				Kontrollen					
Versuch-Nr.:	n	✠	% a	WI	n	✠	% b	D_b	D_z	E
VIb	50	16	32	51,7	50	33	66	34	27,8	1,22
VIc	50	15	30	57,1	50	35	70	40	27,7	1,44
Sa.	100	31	31	54,4	100	68	68	37	18,5	2,0

D. Diskussion

Die intranasale Immunisierung in leichter Aethernarkose mit einer Kombination von inaktiviertem Influenzavirusimpfstoff und einem bakteriellen polyvalenten Lysatimpfstoff verleiht der weißen Maus einen schon bei kleinen Versuchstierzahlen statistisch signifikanten Schutz gegen eine experimentelle Influenzavirusinfektion. Weiterhin zeigen die Ergebnisse in Übereinstimmung mit anderen Autoren (16, 54), daß eine Inhalationsimpfung oder eine intranasale Impfung in Aethernarkose mit einem inaktivierten Influenzavirusimpfstoff der Maus einen statistisch signifikanten Schutz gegen eine experimentelle Influenzavirusinfektion verleiht und daß dieser Schutz auch durch die lokale Gabe eines bakteriellen polyvalenten Lysatimpfstoffes erreicht werden kann (113).

Daß die ersten Versuche, bei denen ich Lungenhomogenisat von zuvor mit Influenzavirus infizierten Mäusen zur Infektion verwendete, mißlangen, lag wohl daran, daß ein anderer Keim, wahrscheinlich Mykoplasmen, mit übertragen wurden.

Die Inhalationsimpfung, bei der die Tiere in einem geschlossenen Behälter einem Impfstoff-Sprühnebel ausgesetzt wurden, führte zu einem Impfschutz, der aber erst bei Zusammenfassung der Einzelversuche statistisch signifikant wurde. Ich erkläre es mir damit, daß die Antigendosis zu gering war. Der sehr teure Impfstoff stand mir nur in begrenzter Menge zur Verfügung, außerdem gehen nach VAN DE LOO (42) bei der Inhalationsimpfung 20 - 30 % des Aerosols im zuführenden apparativen System verloren. Zur Ermittlung der optimalen Impfstoffdosis sind weitere Versuche erforderlich.

Andererseits scheint aber eine zu hohe Impfstoffdosis, wie die intranasale Immunisierung mit der kommerziellen Influenza-Vakzine im Versuch VIa zeigt, zu einer Schädigung des Immunapparates zu führen, was aber wohl eher auf die Zusätze, die dieser Impfstoff enthält, als auf die Antigendosis selbst zurückzuführen ist. KOHLSCHMIDT (35) immunisierte Mäuse lokal mit der hundertfachen Dosis der normalen Immunisierungsmenge, ohne daß es zu einer immunologischen Überlastung im Sinne einer

Immunparalyse kam. Das Antigen muß sich aber auch über den gesamten Respirationstrakt verteilen können, es darf nicht nur Nase, Rachen und Kehlkopf erreichen, wie die negativen Ergebnisse der Versuche mit intranasaler Impfung ohne Aethernarkose zeigen. Gleiche Beobachtungen beschrieben FAZEKAS DE ST. GROTH (16) und PROVOST (54).

Der Impfschutz wird durch die lokale spezifische Immunantwort, also durch Bildung influenzavirus-spezifischer sekretorischer IgA-Antikörper (38,53,104) und durch die Stimulierung der Phagozytose (24,34,91) hervorgerufen. Das in diesen Versuchen verwendete Impf- und das Infektionsvirus sind Influenzaviren der Gruppe A, aber verschiedene Subtypen und somit nicht ganz identisch in ihrer Antigenität. Daß sich trotzdem ein Impfschutz einstellt, zeigt, wie es WALDMAN et al. beschreiben (108), daß das sekretorische IgA nicht so strukturspezifisch ist, wie das Serum IgG.

Die lokale Anwendung des inaktivierten Influenzavirusimpfstoffes hat, sowohl in Tierversuchen (16,54), als auch bei Versuchen an Freiwilligen (53,102) zu einem erfolgreichen Impfschutz gegen eine Influenzavirusinfektion geführt. WALTER (113) konnte im Tierversuch zeigen, daß die lokale Immunisierung mit einem bakteriellen polyvalenten Lysatimpfstoff gegen Influenzavirusinfektion signifikant schützt, was wahrscheinlich vorwiegend auf die Steigerung der Phagozytoserate der Alveolarmakrophagen zurückzuführen ist (34,77). Mit meinen Versuchen konnte gezeigt werden, daß die kombinierte lokale Gabe beider obengenannter Impfstoffe zu einem besonders guten Schutz gegen eine experimentelle Influenzavirusinfektion führt.

Auf den Menschen angewandt, kann also ein kombinierter Impfstoff, der ein Influenzavirusantigen der A- und B-Gruppe und die wichtigsten im Respirationstrakt vorkommenden Bakterien enthält, die unspezifische Immunabwehr anregen, einen influenzavirus-spezifischen und einen bakterien-spezifischen Impfschutz verleihen. Letzterer könnte zusammen mit der unspezifischen Immunabwehr die bei der Virusinfluenza so gefürchteten bakteriellen Superinfektionen mildern, was ich als besonderen Vorteil dieser kombinierten Impfung ansehe. Die Virus-

influenza-Erkrankung verläuft oft mit klinisch mildem Verlauf, kann aber, vor allem bei Risikopatienten durch die bakterielle Superinfektion fatal ausgehen, zumal viele dieser Erreger antibiotika-resistent geworden sind.

Mit dem kombinierten, inaktivierten Impfstoff, als leicht zu handhabendes Aerosol lokal angewendet, könnte die Bevölkerung durchimmunisiert und häufig geboostert werden. Nach wiederholter Antigengabe erfolgt bei Infektion die spezifische Immunantwort wesentlich schneller als nach nur einer vorausgegangenen Antigengabe (20,47,73).

Die lokale Impfung kann auch noch während einer Epidemie durchgeführt werden, da sie, im Gegensatz zur parenteralen Impfung, in der Inkubationszeit eine Infektion nicht provoziert, sondern sogar noch als Impfschutz wirkt, wie RAETTIG in vielen Versuchen nachgewiesen hat (59,67,68).

Weitere Vorteile einer lokalen Immunisierung mit inaktivierten Antigenen liegen im schnellen Wirkungseintritt (21,86,90), in der geringeren Spezifität und im Fehlen von ernsten Nebenwirkungen, von Impfzwischenfällen und Kontraindikationen. Die lokale Impfstoffanwendung ist leicht zu handhaben, sie kann ohne ärztliche Aufsicht durchgeführt werden, was besonders bei Epidemien von großem Vorteil ist (65).

Die noch offenstehenden Fragen für die optimale Impfstoffdosis, die Dauer des Impfschutzes und die Häufigkeit der Boosterimpfungen müßten in weiteren Versuchen ermittelt werden.

E. Zusammenfassung

1) Eine spezifische Impfung mit einem inaktivierten Influenzavirusimpfstoff mittels Inhalationsspray oder Nasentropfen in leichter Aethernarkose führt bei der Maus zu einem statistisch signifikanten Schutz gegenüber einer intranasalen Influenzavirusinfektion.

2) Eine unspezifische Immunisierung nach der gleichen Impfart mit einem polyvalenten bakteriellen Lysatimpfstoff führt bei der Maus ebenfalls zu einem statistisch signifikanten Schutz gegenüber einer intranasalen Influenzavirusinfektion.

3) Der Impfschutz verbessert sich wesentlich, wenn beide Impfstoffe kombiniert angewendet werden.

4) Der Impferfolg ist entscheidend davon abhängig, daß der Impfstoff sich über den gesamten Respirationstrakt verteilen kann.

5) Die Vorteile der kombiniert spezifischen und unspezifischen lokalen Immunisierung gegen eine Influenzavirusinfektion werden diskutiert.

Literaturverzeichnis

(1) BEHRING, E. u. KITASATO, S. : Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren.
Dtsch. med. Wschr. 16, 1113 (1890)

(2) BERG, P.A. : Infektion und Immunantwort.
In: Die gelben Hefte 16 (Heft 2), 49 (1976)

(3) BESREDKA, A. : Die lokale Immunisierung.
Barth-Verlag, Leipzig 1926

(4) BLUMENAU, N.R. : Über aktive Immunisierung von Kindern gegen Diphtherie nach der Methode von DSERZGOWSKY.
Zbl. Bakt., I. Abt. Ref. 49, 648 (1911)

(5) BOLOTOVSKII, V.M.: Theory of work of the JBK-J aerosol chamber for the study of experimental respiratory infections. I. Dynamics of the work of the aerosol chamber. II. Evaluation of aerosol from certain physical parameters.
Probl. of Virol. 6, 492 und 497 (1961)

(6) BREUEL, H.-P. : Lokale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen.
Literatur-Dokumentation, Reihe 4, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969, 354 S., Inaug. Diss., Berlin 1969

(7) BUCKLAND, F. et al. : Nature 166, 354 (1952)
(zit. b. BOLOTOVSKII (5))

(8) BURROWS, W., ELLIOT, M.E. u. HAVENS, J. : Studies on immunity to asiatic cholera. IV.: The excretion of coproantibody in experimental enteric cholera in the guinea pig.
J. Inf. Dis. 81, 261 (1947)

(9) CHANOCK, R.M. : Local antibody and resistance to acute viral respiratory tract disease.
In: Secretory Immunologic System, ed. by DAYTON, SMALL, CHANOCK, KAUFMAN, and TOMASI.
U.S. Government Printing Office, Washington 1971, 83

(10) CRABBÉ, P.A., NASH, D.R., BAZIN, H., EYSSEN, H. u. HEREMANS, J.F. : Antibodies of the Ig A type in intestinal plasma cells of germfree mice after oral or parenteral immunization with ferritin.
J. exp. Med. 130, 723 (1969)

(11) DAVIES, A. : An investigation into the serological properties of dysentery stools.
Lancet 2, 1009 (1922)

(12) DSERZGOWSKY, S.K. : Über die aktive Immunisierung des Menschen gegen Diphtherie.
Zschr. f. Imm. Ref. 3, 602 (1910)

(13) EGUCHI, C. : Versuche über Infektion und Immunisierung junger und alter Mäuse und Meerschweinchen mit Pneumokokken und Streptokokken durch Fütterung und Inhalation.
Zschr. f. Hyg. 105, 74 (1925)

(14) EHRLICH, P. : Experimentelle Untersuchungen über Immunität.
Dtsch. med. Wschr. 1891, 976 und 1218

(15) FAZEKAS DE ST. GROTH, S. u. DONNELLEY, M. : Studies in experimental immunology of influenza. III.: The antibody response.
Austral. J. exp. Biol. Med. Sci. 28, 45 (1950)

(16) DIES. : Studies in experimental immunology of influenza. IV.: The protective value of active immunization.
Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 28, 61 (1950)

(17) FERNALD, G.W., CLYDE, W.A. u. BIENENSTOCK, J. : Immunoglobulin-containing cells in lungs of hamsters infected with Mycoplasma pneumoniae.
J. Immunol. 108, 1400 (1972)

(18) FRETER, R. u. GANGAROSA, E.J. : Oral immunization and production of coproantibody in human volunteers.
J. Immunol. 91, 724 (1963)

(19) FUNK, J. : Tierversuche zur oralen Impfung mit hitzeinaktivierten Fungi (Candida albicans).
Inaug. Diss., Berlin 1969

(20) GERBRANDY, J.L.F. u. VAN DURA, E.A. : Anamnestic secretory antibody response in respiratory secretions of intranasally immunized mice.
J. Immunol. 109, 1146 (1972)

(21) GHANI, A. : Spezifische Influenza-Prophylaxe mit besonderer Berücksichtigung der lokalen Immunisierung.
Inaug. Diss., Münster 1973

(22) GRESSER, J. u. LANG, D.J. : Relationships between viruses and leucocytes.
Progr. Med. Virol. 8, 62 (1969)

(23) GROSSGEBAUER, K., RAETTIG, H., LANGMAACK, H. u. KÜCHLER, R. : Zur unspezifischen Schutzwirkung von Lysozym und Aristolochiassäure bei bakteriellen und viralen Infektionen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 213, 401 (1970)

(24) HENNEY, C.S. u. WALDMAN, R.H. : Cell-mediated immunity shown by lymphocytes from the respiratory tract.
Science 169, 696 (1970)

(25) HERBST, G. : Das Lymphgefäßsystem und seine Verrichtungen.
Göttingen 1844, 333

(26) HEREMANS, J.F., VAERMAN, J.P. u. VAERMAN, C. : Studies on the immune globulins of human serum. II. A study of the distribution of antibrucella and antidiphtheria antibody activities among γss-, γ1M, and γ1A-globulin fractions.
J. Immunol. 91, 11 (1963)

(27) HIRSCH, J.G. : Immunity to infectious diseases: review of some concepts of METSCHNIKOFF.
Bact. Rev. 23, 48 (1959)

(28) HIRSCH, R. : Über das Vorkommen von Stärkekörnern im Blut undim Urin.
Zschr. Exp. Path. 3, 390 (1906)

(29) HOFFMANN, M. : Tierversuche zur Schleimhautpassage und Resorptionsvirämie von T_3-Phagen nach oraler, trachealer und rektaler Gabe.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 198, 371 (1965)

(30) HUMPHREY, J.H.u. WHITE, R.G. : Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971, S. 1 u. 32 u. 109

(31) JANDL, G. : Experimentelle Untersuchungen zum Mechanismus der oralen Typhusimmunisierung.
Z. ges. Hyg. 151, 34 (1965)

(32) JAWETZ, E., MELNICK, J.L. u. ADELBERG, E.A. : Medizinische Mikrobiologie. Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1973, 600 S.

(33) KINNE-SAFFRAN,E., KURSCHILGEN, E., MARQUARDSEN, A.u. RAETTIG, H. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 9. Mitt.: Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Infektionen durch Enteritis-erregende Salmonellen. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 208, 37 (1968)

(34) KLUGER, E. : Einfluß der Inhalationsimpfung auf die Phagozytosefähigkeit von Alveolarmakrophagen der Maus. Inaug. Diss., Berlin 1975

(35) KOHLSCHMIDT, K. : Gibt es nach hochdosierter, oraler Impfung mit Salmonella typhi murium-Antigen eine Immunparalyse? Inaug. Diss., Berlin 1970

(36) KOLLER, S. : Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dr. Dietrich Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1969

(37) LEFÈVRE, H., UECKER, W., BLÜMEL, P. u. RAETTIG, H. : Untersuchungen zur oralen Immunisierung. Die sekundäre Immunreaktion nach primärer oraler und nachfolgender oraler bzw. parenteraler Applikation von bovinem Serumalbumin (BSA) beim Kaninchen. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 213, 548 (1970)

(38) LIEBERMANN, P., BERLIN, B.S., METZGER, J. u. PATTERSON, R. : Production of antibody in the canine tracheal pouch after local and systemic influenza immunization. J. Immunol. 109, 864 (1972)

(39) LIETZ, B. : Orale Impfung mit inaktivierten Dyspepsicoli-Bakterien bei Mensch und Tier. Inaug. Diss., Berlin 1969

(40) LIETZ, B. u. RAETTIG, H. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 5. Mitt.: Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Dyspepsiecoli-Infektionen. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 204, 543 (1967)

(41) LOEFFLER, F. : Über Immunisierung per os.
v. Leuthold-Gedenkschrift I, 247 (1906)

(42) LOO VAN DE, J. : Über die Lokalisation der Antikörperbildung nach aerogener Immunisierung.
Virch. Arch. path. Anat. 333, 40 (1960)

(43) MACKANESS, G.B. : Zelluläre Immunität.
In: Die gelten Hefte 15 (Heft 4), 141 (1975)

(44) MARWIK, G. : Tierversuche zur Inhalationsimpfung mit inaktivierten S. typhi murium-Bakterien.
Inaug. Diss., Berlin 1966

(45) METSCHNIKOFF, E.: Études sur la résorption des cellules.
Ann. Inst. Pasteur 13, 737 (1899)

(46) MEVES, M. : Aufnahme und Verteilung von radiomarkiertem Antigen von S. typhi murium in der Maus bei oraler, rektaler und subkutaner Anwendung.
Inaug. Diss., Berlin 1966

(47) MOCHMANN, H., OCKLITZ, H.W., HERING, L., SCHMIDT, E.F. u. RICHTER, H. : Der Einfluß der Dosierung und des Booster-Reizes auf die Wirksamkeit der oralen Immunisierung gegen Dyspepsie-coli-Infektionen im aktiven Mäuse-schutzversuch.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 216, 24 (1971)

(48) NEUMANN-SCHÖNWETTER, B. : Die lokale Immunisierung mit inaktiviertem Poliomyelitisvirus.
Inaug. Diss., Berlin 1968

(49) N.N. : Die Influenzavirus-Schutzimpfung.
Der Arzneimittelbrief 8, 75 (1974)

(50) OPFERKUCH, W. : Humorale Mechanismen der körpereigenen Abwehr.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 227, 159 (1974)

(51) PFEIFFER, R. u. MARX : Die Bildungsstätte der Choleraschutzstoffe.
Zschr. f. Hyg. 27, 272 (1898)

(52) PIERCE, A.E. : Specific antibodies at mucous surfaces.
Proc. Roy. Soc. Med. 46, 785 (1953)

(53) POTTER, C.W., HENNINGS, R., McLAREN, C. u. CLARKE, A. : Immunity following intranasal administration of an inactivated, freeze-dried A/England/42/72 vaccine.
Arch. Virol. 48, 307 (1975)

(54) PROVOST, P.J. DE MELLO, G.C. u. VASINGTON, P.J. : Comparison of intranasal and parenteral immunization routes of influenza in mice.
Canad. J. Microbiol. 17, 1119 (1971)

(55) RAETTIG, H. : Erfahrungen und vergleichende Betrachtungen über die Erfolge der parenteralen und peroralen Typhusschutzimpfung.
Zschr. f. Immunforschg. 108, 165 (1950)

(56) DERS. : Typhusimmunität und Schutzimpfung. Eine immunbiologische Studie nach den epidemiologischen Erfahrungen während der Typhuspandemie 1945/46 im Lande Mecklenburg.
Gustav Fischer Verlag, Jena 1952

(57) DERS. : Tierexperimente zur oralen Immunisierung mit inaktiviertem Antigen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 182, 525 (1961)

(58) DERS. : Die lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen gegen bakterielle Darminfektionen (Typhus, Paratyphus, Cholera, Ruhr).
Zbl. Bakt., I. Abt. Ref. 183, 1 (1962)

(59) DERS. : Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. 8. Mitt.: Vermeidung der Provokation durch lokale Anwendung des Antigens.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 187, 366 (1962)

(60) DERS. : Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Viren.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 191, 97 (1963)

(61) DERS. : Tierexperimente zur Resorptionsvirämie.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 192, 534 (1964)

(62) DERS. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 1. Mittl.: Der Grundversuch zur Schutzimpfung der Maus gegen eine Enteritisinfektion.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 193, 398 (1964)

(63) RAETTIG, H. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 2. Mitt.: Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung bei der Enteritisinfektion der Maus.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 197, 368 (1965)

(64) DERS. : Neue Modellversuche zur Infektionsabwehr des Darmes.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 198, 206 (1965)

(65) DERS. : Gedanken zu Schutzimpfungen im Katastrophenfall.

Öffentl. Gesundheitsdienst 27, 131 (1965)

(66) DERS. : Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisierung.

Wien. med. Wschr. 115, 33 (1965)

(67) DERS. : Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. 10. Mitt.: Vermeidung der Provokation einer Virusinfektion durch orale Impfung mit inaktiviertem Virus während der Inkubationszeit.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 200, 448 (1966)

(68) DERS. : Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. 11. Mitt.: Die Provokationsepidemie in der Synopse der Tierversuche.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 201, 253 (1966)

(69) DERS. : Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. XII. Mitt.: Beispiele für provozierte Epidemien (Provokationsepidemien) aus der allgemeinen Epidemiologie.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 203, 326 (1967)

(70) DERS. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 3. Mitt.: Dosierung und Impfrhythmus bei der spezifischen Impfung der Maus gegen Salmonellen-Enteritis.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 203, 478 (1967)

(71) RAETTIG, H. : Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen. Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert Koch-Institut.
Bundesgesundheitsblatt 14, 141 (1971)

(72) RAETTIG, H. u. BUSE, A. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 4. Mitt.: Serumantikörper der Maus nach spezifischer Impfung gegen Salmonellenenteritis.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 204, 221 (1967)

(73) DIES. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 10. Mitt.: Serologische Primär- und Sekundärantwort nach oraler Impfung mit S. typhi murium-Vollantigen im vergleichenden Tierexperiment.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 214, 216 (1970)

(74) RAETTIG, H., MARQUARDSEN, A. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 11. Mitt.: Wirksamkeit von Kombinationsimpfstoffen aus Enterobakteriazeen-Vollantigen im Mäuseschutztest.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 215, 296 (1970)

(75) RANKIN, J.D., TAYLOR, R.J. u. NEWMAN, G. : The protection of calves against infection with S. typhi murium by means of a vaccine prepared from S. dublin (strain 51).
Vet. Rec. 80, 720 (1967)

(76) RAUSS, K. u. KETYI, J. : Serum- and coproantibodies in mice, immunized perorally with Shigella flexneri.
Zschr. Immunforschg. 127, 37 (1964)

(77) RAUTENBERG, E. : Gesteigerte Phagozytoserate von Alveolarmakrophagen nach Inhalationsimpfung mit einem polyvalenten, bakteriellen Lysatimpfstoff im Tierversuch.
Inaug. Diss., Berlin 1977

(78) RODEGRA, H. : Immuntherapie im HNO-Bereich.
Ärztl. Praxis 26, 1022 (1974)

(79) SAHM, E. : Sekretion von T_3-Phagen als Modellvirus in den Magen der Maus nach intravenöser Injektion.
Inaug. Diss., Berlin 1968

(80) SANARELLI, G. : Sur les vaccinations par voie nasal.
Zbl. Bakt., I. Abt. Ref. 79, 344 (1925)

(81) SCHEWELEFF, P.P.: Zur Frage der aktiven Immunisierung gegen Diphtherie durch Luftwege.
Zbl. Bakt., I. Abt. Ref. 49, 648 (1911)

(82) SCHIESSLE, W. : Über die Vorgänge bei der Inhalation von Aerosolen in der normalen Lunge.
Zschr. Aerosolforschg. Ther. 2, 364 (1953)

(83) SCHLEWINSKI, E., GRABEN, N., FUNK, J., SAHM, E. u. RAETTIG, H. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 13. Mitt.: Persorption und Sekretion von Mikroorganismen im Tierversuch.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 218, 93 (1971)

(84) SCHMUDDE, R. : Vergleichende orale, nasale und rektale Impfung von Mäusen mit inaktivierten S. typhi murium-Bakterien mit und ohne Zusatz von Dimethylsulfoxid-Zugabe.
Inaug. Diss., Berlin 1968

(85) SCHULZE, H.-J. : Einfluß der oralen Immunisierung auf die Phagozytosefähigkeit der Peritonealmakrophagen der Maus.
Inaug. Diss., Berlin 1972

(86) SCHULZE, H.-J., JASCHINSKI, C. u. RAETTIG, H. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 17. Mitt.: Zeitkinetik der unspezifischen Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 225, 273 (1973)

(87) SHAYEGANI, M., LIEF, F.S. u. MUDD, S. : Specific and nonspecific cell-mediated resistance to influenzavirus in mice.
Infect. Immun. 9, 991 (1974)

(88) SMITH, C.B., PURCELL, R.H., BELLANTI, J.A. et al. : Protective effect of antibody to parainfluenza type 1 virus.
New Engl. J. Med. 275, 1145 (1966)

(89) SPRENGER, F. : Die lokale Immunisierung. Praktische Erfahrungen mit einem Immuno-Therapeutikum.
Therapiewoche 24, 4325 (1974)

(90) STEFFEN, R. : Die Zeitkinetik des Schutzes nach oraler Impfung nachgewiesen am Modell der Dyspepsiecoli-Infektion der weißen Maus.
Inaug. Diss., Berlin 1973

(91) STOSSEL, T.P. : Phagozytose.
In: Die gelben Hefte 15 (Heft 3), 97, (1975)

(92) STREY, A., LUSKY, K., STELLMACHER, W. u. TROLLDENIER, H. : Untersuchungen zum Immunmechanismus bei der oralen Vakzinierung mit Totantigen. 2. Mitt.: Typenspezifische und unspezifische Elimination von Salmonella-Vollantigen aus dem Blut und seine Verteilung in Leber und Milz.
Arch. Exp. Vet. Med. 26, 291 (1971)

(93) TOMASI, T.B. : Studies on the immunoglobulin A proteins of serum and nonvascular fluids.
Thesis, Rockefeller University, New York 1965

(94) TOMASI, T.B. jr. : The immune system of secretions.
Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey 1976, 1 - 161

(95) TOMASI, T.B. u. ZIGELBAUM, S. : The selective occurence of γlA-globolins in certain body fluids.
J. Clin. Invest. 42, 1552 (1963)

(96) UECKER, W., MEVES, M. u. RAETTIG, H. : Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 6. Mitt.: Tierversuche zur Resorption und Sekretion von radiomarkiertem, bakteriellem Antigen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 208, 2 (1968)

(97) UNHOLTZ, K. : Klinische Erfahrungen mit der Schleimhautimmunisierung bei chronischer Bronchitis.
Therapiewoche 25, 6788 (1975)

(98) VOLKHEIMER, G. : Das Phänomen der Persorption.
Ärztl. Praxis 21, 3711 und 3731 (1969)

(99) VOLKHEIMER, G., WENDLANDT, H., WAGEMANN, W. et al.: Beobachtungen zum Persorptionsmechanismus.
Path. Microbiol. 31, 51 - 58 (1968)

(100) VOSS, H.: Virus und Polyelektrolyte. II. Mitt.: Die Bedeutung der Polyelektrolyte für die Abwehr antigenwirksamer Substanzen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 193, 1 (1964)

(101) WALDMAN, R.H., BOND, J.O., LEVITT, L.P. u. HARTWIG, E.C. et al.: An evaluation of influenza immunization. Influence of route of administration and vaccine strain.
Bull. Wld Hlth Org. 41, 543 (1969)

(102) WALDMAN, R.H. u. COGGINS, W.J.: Influenza immunization: field trial on a university campus.
J. Inf. Dis. 126, 242 (1972)

(103) WALDMAN, R.H.u. GANGULY, R.: Immunity to infection on secretory surfaces.
J. Inf. Dis. 130, 419 (1974)

(104) WALDMAN, R.H., JÜRGENSEN, P.F., OLSEN, G.N., GANGULY, R. u. JOHNSON III, J.E.: Immune response of the human respiratory tract. I. Immunoglobulin levels and influenza virus vaccine antibody response.
J. Immunol. 111, 38 (1973)

(105) WALDMAN, R.H., KASEL, J.A., FULK, R.V., TOGO, Y. et al.: Influenza antibody in human respiratory secretions after subcutaneous or respiratory immunization with inactivated virus.
Nature 218, 594 (1968)

(106) WALDMAN, R.H., MANN, J.J. u. SMALL, P.A.jr.: Immunization against influenza. Prevention of illness in man by aerosolized inactivated vaccine.
J. Amer. Med. Ass. 207, 520 (1969)

(107) WALDMAN, R.H., SPENCER, C.S.u. JOHNSON, J.E.: Respiratory and systemic cellular and humoral immune responses to influenza virus vaccine adminstered parenterally or by nose drops.
Cell. Immunol. 3, 294 (1972)

(108) WALDMAN, R.H., WIGLEY, F.M. u. SMALL, P.A. jr.: Specifity of respiratory secretion antibody against influenza virus.
J. Immunol. 105, 1477 (1970)

(109) WALDMAN, R.H., WOOD, S.H., TORRES, E.J. u. SMALL, P.A. jr. : Influenza antibody response following aerosol administration of inactivated virus.
Amer. J. Epid. 91, 575 (1970)

(110) WALSH, T.E. u. CANNON, P.R. : Studies on acquired immunity in rabbits to intranasal infections with type I Pneumococcus.
J. Immunol. 31, 331 (1936)

(111) WALSH, T.E. u. CANNON, P.R. : Immunization of the respiratory tract. A comparative study of the antibody content of the respiratory and other tissues following active, passive and regional immunization.
J. Immunol. 35, 31 (1938)

(112) WALSH, T.E., SULLIVAN, F.L.u. CANNON, P.R. : Local formation of antibody by the nasal mucosa.
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 29, 675 (1932)

(113) WALTER, G. : Unspezifische bakterielle Inhalationsimpfung bei Mäusen gegen Influenzavirus-Inhalationsinfektion.
Inaug. Diss., Berlin 1976

(114) V. WASSERMANN, A. u. CITRON, J. : Über die Bildungsstätten der Typhusimmunkörper.
Zschr. f. Hyg. 50, 332 (1905)

(115) WERNER, H.-J. : Immunfluoreszenzuntersuchungen an der Bronchialschleimhaut.
Krankenhausarzt 49, 202 (1976)

(116) WERNER, H.-J., LEFÈVRE, H. u. RAETTIG, H. : Biphasic occurrence of Ig M forming cells in the intestine after oral immunization.
Nature 232, 119 (1971)

(117) WIESMANN, E. : Medizinische Mikrobiologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971, 273 S.

(118) YOSHIDA, E. : Über Immunisierung per os.
Arch. f. Hyg. 69, 21 (1909)

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. H. Raettig für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Arbeit bedanken.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern seiner Abteilung, besonders Frau Stoffels für die Assistenz bei den Tierversuchen und Frau Cronenberg für ihre Mithilfe bei der Literaturbeschaffung.

Den Behringwerken Marburg und der Fa. Sarbach, Chatillon-sur-Chalaronne, danke ich für die freundliche Überlassung der Impfstoffe.

Herrn Dr. W. Lange der Virusabteilung des Robert Koch-Institutes danke ich für die freundliche Hergabe des Influenzavirus und für die Durchführung der elektronenmikroskopischen Untersuchung des Lungehomogenisates.

Lebenslauf

Am 13. 1. 1934 wurde ich in Chemnitz geboren. 1940 - 1948 besuchte ich die Grundschule, 1948 - 1950 die Oberschule in Leipzig.

1953 erhielt ich nach dreijähriger Ausbildung an der Universitätskinderklinik Leipzig die Staatliche Anerkennung als Säuglings- und Kinderkrankenschwester. In diesem Beruf arbeitete ich bis 1966 an Krankenhäusern in Leipzig, Berlin-Buch, Köln, Osnabrück und Berlin-Charlottenburg.

Von 1962 - 1965 besuchte ich die private Abendoberschule "Dr. H. Stachowiak" in Berlin-Halensee und legte im Mai 1966 die Reifeprüfung beim Schulsenator in Berlin ab.

Von 1966 - 1973 studierte ich Humanmedizin an der Freien Universität Berlin und bestand dort im November 1973 die ärztliche Prüfung. Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit in Krankenhäusern in Berlin erhielt ich am 28. 2. 1975 die Approbation. Seit 1. 6. 1976 bin ich als wissenschaftliche Angestellte im Robert Koch-Institut in Berlin tätig.